21673

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

T098817

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

ประสิทธิภาพของ *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) , *Bacillus thuringiensis* (Berliner) and *Pseudomonas* sp. (Migula) ในการย่อยสลายสารกำจัดแมลง Methyl Parathion

Efficacies of *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) , *Bacillus thuringiensis* (Berliner) and *Pseudomonas* sp. (Migula) in Degradation of Methyl Parathion

โดย

นางสาวจรีภรณ์ เอี้ยวสุวรรณ

Miss Jareeporn Aiewsuwan

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

Department of plant Management Technology

Faculty of Agricultural Technology

เลขหมู่..............

เลขทะเบียน 38817

วัน.เดือน.ปี 12 ...

.b. 11 ...

.i. ....

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพฯ (10520)

King Mongkut' s Institute of Technology Chaokuntaharn Ladkrabang

Bangkok , Thailand (10520)

พ.ศ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

ประสิทธิภาพของ *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) , *Bacillus thuringiensis* (Berliner) and *Pseudomonas* sp. (Migula) ในการย่อยสลายสารกำจัดแมลง Methyl Parathion

Efficacies of *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) , *Bacillus thuringiensis* (Berliner) and *Pseudomonas* sp. (Migula) in Degradation of Methyl Parathion

โดย

นางสาวจรีภรณ์ เอี้ยวสุวรรณ

Miss Jareeporn Aiewsuwan

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

เรื่อง

ประสิทธิภาพของ *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) , *Bacillus thuringiensis* (Berliner) and *Pseudomonas* sp. (Migula) ในการย่อยสลายสารกำจัดแมลง Methyl Parathion

Efficacies of *Bacillus subtilis* , *Bacillus thuringiensis* and *Pseudomonas* sp. in Degradation of Methyl Parathion

โดย

นางสาวจรีภรณ์ เอี้ยวสุวรรณ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

....

(ผศ. มานพ นชะพงษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

....

(รศ. ชวาลา บุรณศิริ)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

วันที่ ๒๓ เดือน มิ.ย. พศ. ๕๐

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เรื่อง	:	ประสิทธิภาพของ *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) , *Bacillus thuringiensis* (Berliner) และ *Pseudomonas* sp. (Migula) ในการย่อยสลายสารกำจัดแมลง Methyl Parathion
โดย	:	นางสาวจรีภรณ์ เอี้ยวสุวรรณ
ปริญญา	:	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
สาขาวิชา	:	เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
อาจารย์ที่ปรึกษา	:	.... 22 มี.ค. 50

(ผศ. มานพ นชะพงษ์)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis Bacillus thuringiensis* และ *Pseudomonas* sp.ในการย่อยสลายสารกำจัดแมลงเมธิล พาราไธออน ทำโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) มี 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีสารเมธิล พาราไธออนผสมอยู่ 5 พีพีเอ็ม โดยมีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas* sp.และไม่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas* sp.อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีสารเมธิล พาราไธออนผสมอยู่ 5 ppm โดยมีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* และอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีสารเมธิล พาราไธออนผสมอยู่ 5 ppm โดยมีการปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis* แล้วตรวจวิเคราะห์หาสารเมธิล พาราไธออนด้วยวิธีการของ Steinwandter (1985) ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่า เชื้อ *Pseudomonas* sp. มีปริมาณสารเมธิล พาราไธออนเหลืออยู่น้อยที่สุดคือ2.404 , 2.308 และ 1.632 พีพีเอ็ม เมื่อเวลาผ่านไป 1, 4 และ 8 วัน ซึ่งจะเหลือน้อยกว่าในอาหารที่ไม่มีการใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P.05) ส่วนเชื้อ *Bacillus thuringiensis* มีปริมาณสารเหลือน้อยรองลงมา คือ 4.008 , 3.688 และ 3.132 พีพีเอ็ม ซึ่งจะเหลือน้อยกว่าในอาหารที่ไม่มีการใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P.05) ในวันที่ 4 และ 8 แต่ในวันที่ 1 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเชื้อ *Bacillus subtilis* มีปริมาณสารเหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อมากที่สุดคือ 4.208 , 3.872 และ 3.612 พีพีเอ็ม และเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P.05) ในวันที่ 4 และ 8 แต่ในวันที่ 1 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Title : Efficacies of *Bacillus subtilis* , *Bacillus thuringiensis* and *Pseudomonas* sp. in Degradation of Methyl Parathion

By : Mrs. Jareeporn Aiewsuwan

Degree : Bachelor of Science in Agriculture

Major Field : Plant Pest Management Technology

Advisor : Manop Nachapong 22, March 07

(Asst.Prof.Manop Nachapong)

Investigation on the efficacies of *Bacillus subtilis* , *Bacillus thuringiensis* and *Pseudomonas* sp. in degradation of methyl parathion was carried out in CRD with 3 replications and 6 treatments as the followings; nutrient broth (NB) containing methyl parathion 5 ppm and *Bacillus subtilis* , NB with methyl parathion 5 ppm (check) , nutrient broth (NB) containing methyl parathion 5 ppm and *Bacillus thuringiensis* , NB with methyl parathion 5 ppm (check) , nutrient broth (NB) containing methyl parathion 5 ppm and *Pseudomonas sp.* , NB with methyl parathion 5 ppm (check) , respectively . Methyl parathion residues were extracted and isolated by using the method of Steinwandter (1985) The results showed that methyl parathion in NB inoculated with *Pseudomonas* sp. was significantly less than that of no inoculation (check) on 1 , 4 and 8 days (P.05) , respectively . Methyl parathion resuides in NB inoculated with *Bacillus thuringiensis* was significantly less than that of no inoculation (check) on 4 and 8 days but there were not significantly different on 1 day (P.05) . Methyl parathion resuides in NB inoculated with *Bacillus subtilis* was significantly less that of no inoculation (check) on 4 and 8 days but there were not significantly different on 1 day (P.05) .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษปริญญาตรีเล่มนี้ สำเร็จลุล่วงได้ดี เนื่องมาจาก ได้รับความกรุณาจาก ผศ. มานพ นชะพงษ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ที่คอยให้คำปรึกษาและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆทั้งในการทดลองและทำรายงาน และขอขอบคุณ คุณ จรงค์ศักดิ์ พุมนวน นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช ที่คอยอำนวยความสะดวก รวมทั้งยังช่วยให้แนวคิดในการทดลองและช่วยดูแลการทำงานอย่างต่อเนื่องตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณชัยรัตน์ สนศิริ กรมวิชาการเกษตรที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ด้านเชื้อซูโดโมแนสในการทดลอง

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบิดา มารดาและครอบครัวเอี้ยวสุวรรณ ที่ได้ช่วยให้กำลังใจและที่ได้ช่วยส่งเสริมในด้านต่างๆตลอดมา รวมทั้งบุคคลทุกท่านที่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องในการทำปัญหาพิเศษปริญญาตรีฉบับนี้

จรีภรณ์ เอี้ยวสุวรรณ

มกราคม 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
คำนิยม	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VIII
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
ตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และสารเคมี	29
วิธีการทดลอง	31
ผลการทดลอง	36
วิจารณ์ผลการทดลอง	45
สรุปผลการทดลอง	46
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ในวันที่ 0, 1 , 4 และ 8 วัน 37
2. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis.* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis.* ในวันที่ 0, 1 , 4 และ 8 วัน 40
3 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis.* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis.* ในวันที่ 0, 1 , 4 และ 8 วัน 43

ตารางภาคผนวกที่

1. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ในวันที่ 0, 1 , 4 และ 8 วัน 51
2. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis.* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis.* ในวันที่ 0, 1 ,4 และ8 วัน 52
3. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis.* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* . ในวันที่ 0, 1 , 4 และ 8 วัน 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ก่อนการทดลอง 54
5. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. หลังการทดลอง 1 วัน 55
6. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. หลังการทดลอง 4 วัน 56
7. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. หลังการทดลอง 8 วัน 57
8. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. ก่อนการทดลอง 58
9. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. หลังการทดลอง 1 วัน 59
10. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. หลังการทดลอง 4 วัน 60
11. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. หลังการทดลอง 8 วัน 61
12. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* . ก่อนการทดลอง 62
13. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ใน อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* . หลังการทดลอง 1 วัน 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ใน
อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis.*
และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* . หลังการทดลอง 4 วัน 64
15. แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathionที่เหลืออยู่ใน
อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis.*
และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* . หลังการทดลอง 8 วัน 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของ methyl parathion	4
2.	แสดงลักษณะของเชื้อ *Bacillus subtilis*	10
3.	แสดงลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas* sp.	14
4.	แสดงลักษณะของเชื้อ *Bacillus thuringiensis*	16
5.	แสดงส่วนประกอบพื้นฐานการทำงานของเครื่อง Gas Chromatography	23
6.	แสดงปริมาณความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 0 , 1 , 4 และ 8 วัน	38
7.	แสดงปริมาณความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*. โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 0 , 1 , 4 และ 8 วัน	41
8.	แสดงปริมาณความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*. โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 0 , 1 , 4 และ 8 วัน	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

สารกำจัดศัตรูพืชเป็นปัจจัยสำคัญในการทำการเกษตรซึ่งทั่วโลกได้พยายามคิดค้นและพัฒนาอย่างมากในช่วง 2 – 3 ทศวรรษที่ผ่านมา (Imran et al., 2004) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างกว้างขวางเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคทั้งภายในและส่งออกต่างประเทศทำให้ต้องมีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อป้องกันไม่ให้ผลผลิตได้รับความเสียหาย เนื่องจากประเทศไทยอยู่ในเขตร้อนชื้นทำให้สามารถเพาะปลูกพืชได้ตลอดทั้งปี จากสภาพดังกล่าวทำให้แมลงศัตรูพืชสามารถเจริญและแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว การระบาดของแมลงศัตรูพืชจึงรุนแรงกว่าในประเทศที่อยู่ในพื้นที่หนาว ส่งผลให้เกษตรกรต้องหาวิธีการป้องกันและกำจัดแมลงมากยิ่งขึ้น การใช้สารกำจัดศัตรูพืชเป็นอีกวิธีที่ที่สะดวกและได้รับความนิยม เพราะสามารถควบคุมและกำจัดแมลงที่ระบาดอย่างรุนแรงได้ผลทันที ทำให้ประเทศไทยมีแนวโน้มการนำเข้าสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเพิ่มจำนวนมากขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2512 เป็นต้นมา (ลักขณา , 2544)

สารกำจัดศัตรูพืชส่วนใหญ่ที่ไทยนำเข้านั้นเป็นสารประเภท 1a ที่มีพิษร้ายแรงยิ่ง (extremely hazardous) และประเภท 1b คือพิษร้ายแรง (highly hazardous) สภาพการณ์นี้ทำให้เกษตรกรผู้ที่เกี่ยวข้องได้รับพิษภัยจากสารเคมีดังกล่าวเป็นจำนวนมาก และจากผลการตรวจระดับโคลินเอสเตอเรสจากเลือดของเกษตรกร ของกรมอาชีวอนามัย กระทรวงสาธารณสุขพบว่า มีเกษตรกรที่มีผลการตรวจเลือดอยู่ในเกณฑ์ที่ไม่ปลอดภัย และเสี่ยงต่อการเกิดพิษสูง นอกจากนี้มลพิษที่ได้จากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชยังกระจายไปสู่ผู้บริโภคโดยการตกค้างของสารพิษในผลผลิต (วิฑูรย์ , 2542)

ปัจจุบันสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่ม ออร์กาโนฟอสเฟต เป็นสารเคมีที่ใช้กันอย่างกว้างขวางจึงก่อให้เกิดปัญหาตามมา เช่น ปัญหาสิ่งแวดล้อม (Digrak and Kazanici , 2001) ก่อให้เกิดการปนเปื้อนในธรรมชาติ โดยเฉพาะสาร methyl parathion ที่ใช้กันทั่วโลกเพราะสารเคมีที่สำคัญในการเกษตร แต่ได้มีการประกาศห้ามใช้แล้วและเนื่องจากมีการใช้เป็นเวลานานจึงเกิดการสะสมตกค้างในสิ่งแวดล้อม ทำให้พืชสามารถนำสารที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมไปใช้เพราะเหตุนี้จึงมีสารตกค้างอยู่ในพืชด้วย (ลักขณา , 2545) จึงมีการนำจุลินทรีย์ในดิน มาควบคุมมลภาวะต่างๆ โดยจุลินทรีย์เหล่านี้มีอัตราการเจริญเติบโต และ metabolism สูงขึ้นเมื่อเกิดมลภาวะต่างๆขึ้น (Imran et al., 2004)

ในปัจจุบัน มนุษย์มีความห่วงใยในการรักษาดุลธรรมชาติและระบบนิเวศมากขึ้น สารกำจัดศัตรูพืชบางชนิดแม้จะมีพิษตกค้างสั้น แต่ก็มีปัญหาในเรื่องการสร้างความต้านทานโดยแมลงศัตรูและการมีพิษสูงต่อแมลงศัตรูธรรมชาติ ซึ่งได้แก่ ตัวห้ำและตัวเบียนที่มีประโยชน์ต่างๆประกอบกับปัจจุบันเป็นยุคที่มีความก้าวหน้าของการศึกษาทางสรีรวิทยา และพิษวิทยาของแมลง ตลอดจนความก้าวหน้าของเทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ จึงยังคงมีความพยายามที่จะค้นคว้าหาสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มใหม่ๆ ขึ้นมาทดแทน อาจกล่าวได้ว่า เป็นสารกำจัดศัตรูพืชที่เน้นการพัฒนาการใช้สารกำจัดศัตรูพืชซึ่งมีผลทางชีววิทยาที่เฉพาะเจาะจงต่อแมลงศัตรูซึ่งเป็นเป้าหมายในการป้องกันกำจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนั้น การวิจัยในปัจจุบันยังมุ่งเน้นเกี่ยวกับการค้นคว้าหาโครงสร้างเคมีของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่ๆ จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (natural product) เช่นจากพืชหรือจากการหมักในจุลินทรีย์ต่างๆ เพื่อนำมาใช้เป็นต้นแบบในการสังเคราะห์สารกำจัดแมลงชนิดใหม่ที่มีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างไปจากเดิม เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาการสร้างความต้านทานของแมลง เช่น การพบสารอะเวอร์เมกติน(avermectins) ซึ่งผลิตโดยจุลินทรีย์ ในดินชนิดหนึ่ง หรือสารอะซาดิเรกติน (azadirachtins) ซึ่งสกัดได้จากเมล็ดสะเดา (สุภาณี , 2537)

สำหรับแบคทีเรียในดินที่สำคัญที่สามารถย่อยสลายสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ตกค้างในดิน คือ เชื้อ *Pseudomonas sp.* ซึ่งสามารถย่อยสลายสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตได้โดยการสร้างเอนไซม์ phosphatase หรือ phosphotriasterase ขึ้นมาย่อยสลายสารเหล่านี้เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ (Imran et al., 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

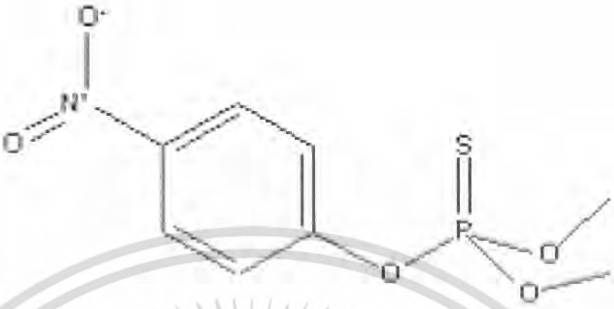
วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ ***Bacillus subtilis*** เชื้อ ***Bacillus thuringiensis*** และเชื้อ ***Pseudomonas sp.*** ในการย่อยสลายสาร methyl parathion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

เมทธิล พาราไธออน (Methyl Parathion)



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Methyl Parathion (ลักขณา,2544)

ชื่อทางเคมีตามระบบ IUPAC คือ Dimethyl 4 – nitrophenyl phosphorothionate

ชื่อพ้องอื่นๆ Parathion-methyl; Phosphorothioic acid O,O-dimethyl O-(4-nitrophenyl) ester; O,O-dimethyl O-p-nitrophenyl phosphorothioate; O,O-dimethyl O-p-nitrophenyl thiophosphate; Dimethyl parathion; Metaphos; E 601; Dalf; Folidol-M; Metacide; Penncap-M; Metafos; Dimethyl p-nitrophenyl monothiophosphate; O,O-dimethyl O-(p-nitrophenyl) thionophosphate;Dimethylp-nitrophenylthionophosphate;P-nitrophenyldimethylthionophosphate; Dalif; Metron; Nitrox 80; Bladan m; Nitrox; Wofatox; Bay e-601; Folidol-80; Metaphor; Parathion methyl homolog; Dimethyl O-p-nitrophenyl thiophosphate; Methyl parathion, liquid

สูตรโมเลกุล C_8-H_{10}-N-O_5-P-S

รหัส IMO

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่ามาตรฐานและความเป็นพิษ (Standard and Toxicity)

LD_{50}(มก./กก.) : 6010 (หนู) LC_{50}(มก./ม^3) 34 / 4 ชั่วโมง (หนู)

มีพิษเฉียบพลันทางปาก ประมาณ 9 – 25 มก. ทางผิงหนัง(กระต่าย) 300 – 400 / มก. (หนู) 20 มก. / กก.

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี (Physical and Chemical Properties)

สถานะ : เป็นของแข็ง สี: ขาวถึงน้ำตาล

กลิ่น : ฉุน คล้ายกระเทียม นน. : โมเลกุล 263.21

จุดเดือด(ซ^0 : 119) จุดหลอมเหลว / จุดเยือกแข็ง : 35^{0}C

อันตรายต่อสุขภาพอนามัย (HealthEffect)

สัมผัสทางหายใจ - การหายใจเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อเยื่อเมือก และทางเดินหายใจส่วนบน

สัมผัสทางผิวหนัง - การสัมผัสถูกผิวหนังจะก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง สารนี้ดูดซึมผ่านผิวหนังอย่างรวดเร็ว

กินหรือกลืนเข้าไป - การกลืนหรือกินเข้าไปจะเป็นอันตราย สารนี้จะไปยับยั้งการหลั่งเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ทำให้เกิดอาการน้ำลายฟูมปาก และมีการหลั่งของของเหลวในปอด, น้ำตาไหล, สายตาพร่ามัว, ภาวะกล้ามเนื้อทำงานไม่ประสานกัน

สัมผัสถูกตา - การสัมผัสถูกตาจะก่อให้เกิดการระคายเคือง

การก่อมะเร็ง ความผิดปกติ,อื่น ๆ - สารนี้เป็นสารเปลี่ยนแปลงพันธุกรรม สารนี้สามารถดูดซึมผ่านผิวหนังอย่างรวดเร็ว

- สารนี้ทำลายระบบประสาท, เลือด, หัวใจ, ตา, ตับ, ไต
- สารนี้ทำให้น้ำลายขับออกมามาก และมีน้ำออกจากปอด, น้ำตาไหล, การมองเห็นไม่ชัดเจน, ท้องร่วง, สั่น, เหงื่อออกมาก, อ่อนเพลีย, ชัก, หมดสติ, เกิดภาวะผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีคล้ำเนื่องจากขาดออกซิเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา (Stability and Reaction)

ความคงตัวทางเคมี : สารนี้มีความเสถียร

สารที่เข้ากันไม่ได้ : สารออกซิไดซ์อย่างแรง,เบส

สารเคมีอันตรายที่เกิดจากการสลายตัว : คาร์บอนมอนนอกไซด์, คาร์บอนไดออกไซด์, ไนโตรเจนออกไซด์

การเก็บรักษา/สถานที่เก็บ/เคลื่อนย้าย/ขนส่ง (Storage and Handling)

- เก็บในที่เย็นและแห้ง
- เก็บในภาชนะบรรจุที่ปิดมิดชิด
- ใช้เฉพาะในบริเวณที่มีตู้ดูดควันสารเคมี
- อย่าหายใจเอาฝุ่นของสารเข้าไป,อย่าให้เข้าตา,สัมผัสกับผิวหนังและเสื้อผ้า
- ให้ล้างทำความสะอาดร่างกายทุกครั้งภายหลังทำการเคลื่อนย้าย
- จัดให้มีฝักบัวอาบน้ำและอ่างล้างหน้าในบริเวณเก็บสารเคมี
- สวมอุปกรณ์ป้องกันอันตราย หน้ากากป้องกันการหายใจ

การปฐมพยาบาล(First Aid)

หายใจเข้าไป : ถ้าหายใจเข้าไป ให้เคลื่อนย้ายผู้ป่วยออกสู่บริเวณที่มีอากาศบริสุทธิ์ ถ้าผู้ป่วยหยุดหายใจให้ช่วยผายปอด ถ้าหายใจลำบากให้ออกซิเจนช่วย นำส่งไปพบแพทย์

กินหรือกลืนเข้าไป : ถ้ากลืนหรือกินเข้าไป หากผู้ป่วยยังมีสติ ให้ผู้ป่วยบ้วนล้างปากด้วยน้ำ นำส่งไปพบแพทย์ทันที

สัมผัสถูกผิวหนัง : ถ้าสัมผัสถูกผิวหนัง ให้ฉีดล้างผิวหนังทันทีด้วยน้ำปริมาณมากอย่างน้อย 15 นาที พร้อมถอดเสื้อผ้าและรองเท้าที่ปนเปื้อนสารเคมีออก นำส่งไปพบแพทย์ทันที

สัมผัสถูกตา : ถ้าสัมผัสถูกตา ให้ฉีดล้างตาโดยทันทีด้วยน้ำปริมาณมากๆอย่างน้อย 15 นาที พร้อมกระพริบตาถี่ๆ นำส่งไปพบแพทย์ทันที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การออกฤทธิ์

เมธิล พาราไธออน เป็นสารกำจัดแมลงในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ประเภทไม่ดูดซึม ออกฤทธิ์ในการสัมผัสตายและกินตาย โดยไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซตทิลโคลินเอสเตอเรสที่ระบบประสาทเช่นเดียวกับสารออร์กาโนฟอสเฟตชนิดอื่นๆ สารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตจะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซตทิลโคลินเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase : AChE) ทำให้มีการสะสมอะเซตทิลโคลิน (acetylcholine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ที่จุดเชื่อมต่อระหว่างประสาท (synaptic junction) โดยปกติ อะเซตทิลโคลินเมื่อจับกับอะเซตทิลโคลินเอสเตอเรส แล้วจะแตกตัวเป็นกรดอะซิติกและโคลิน ซึ่งจะไม่ทำปฏิกิริยาใดๆ คือมีความเฉื่อย แต่อะเซตทิลโคลินที่ไม่แตกตัวและสะสมอยู่ ณ จุดเชื่อมต่อระหว่างประสาทจะทำให้ส่งสัญญาณทางประสาทตลอดเวลา มีผลทำให้กล้ามเนื้อกระตุกและเป็นอัมพาตได้ (พาลาภ , 2537 ; ลักขณา , 2544)

อะเซตทิลโคลินเป็นสารสื่อประสาทที่สร้างจาก อะเซตทิลโคเอนไซม์ เอ (acetyl coenzyme A) และโคลิน (choline) โดยมีเอนไซม์โคลินอะเซตทิลเรส (choline acetylase) เป็นตัวกระตุ้น (catalyst) โดยอะเซตทิลโคลินจะถูกเก็บไว้ที่พรีไซแนปติคเมมเบรน (presynaptic membrane) เมื่อไซแนปติคเวสิเคลมีอะเซตทิลโคลินเต็ม ไซแนปติคเวสิเคลจะเคลื่อนที่ไซแนปติคคเลฟท์ (synaptic cleft) แล้วเชื่อมกับพรีไซแนปติคเมมเบรน โดยผนังไซแนปเวสิเคลจะเปิดออก ปล่อยให้อะเซตทิลโคลินเข้ามาในบริเวณจุดเชื่อมต่อของไซแนปติค (synaptic junction) แล้วอะเซตทิลโคลินจะเข้าจับกับอะเซตทิลโคลินเอสเตอเรส หลังจากนั้นอะเซตทิลโคลินจะถูกทำลายโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ได้โคลินและกรดแอซิติก (acetic acid) โดย กระบวนการดังกล่าวโมเลกุลของอะเซตทิลโคลินจะจับเกาะกับเอนไซม์อะเซตทิลโคลินเอสเตอเรส ที่ตำแหน่งเอสเทอราติก (esteratic site) ซึ่งมีประจุลบ การจับกาะระหว่างโมเลกุลของอะเซตทิลโคลินเอสเทอเรสเริ่มที่การจับเกาะของแอมโมเนียไอออนของอะเซตทิลโคลินกับตำแหน่งแอนไอออนนิคของอะเซตทิลโคลินเอสเทอเรส และการจับเกาะที่ตำแหน่งเอสเทอราติคซึ่งปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเป็นขั้นตอน คือขั้นตอนแรกเกิดปฏิกริยาอะเซตทิเลชัน (acetylation) ซึ่งจะทำให้เกิดสารเชิงซ้อน enzyme – substrate complex ต่อมาโมเลกุลของโคลินแยกออก และสุดท้ายจะเกิดปฏิกิริยาดีอะเซตทิเลชัน (deacetylation) (ลักขณา , 2544)

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซตทิลโคลินเอสเทอเรส โดยสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต เกิดจากสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตทำปฏิกิริยาฟอสฟอรีเลชั่น (phosphorelation) กับอะเซตทิลโคลินเอสเทอเรสที่อยู่ส่วนปลายประสาท ซึ่งขั้นตอนการทำปฏิกิริยาเริ่มจากการเกิด enzyme – inhibitor complex ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ ต่อมาเกิดฟอสฟอรีเลชัน ซึ่งจะยับยั้งเอนไซม์อะเซตทิลโคลินเอสเทอเรส ทำให้มีการสะสมอะเซตทิลโคลินซึ่งมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลมีผลทำให้มีการถ่ายทอดสัญญาณระหว่างปลายประสาทตลอดเวลา ทำให้แมลงหรือสัตว์แสดงอาการว่องไวผิดปกติ (hyperactivity) สั่นหรือชัก เป็นอัมพาต และตายในที่สุด และสุดท้ายจะเกิดปฏิกิริยาดีฟอสฟอรีเลชัน เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ซึ่งจะทำให้อะเซตทิลโคลินเอสเตอเรสกลับสู่ภาวะปกติ (สุภาณี , 2537 ; ลักขณา , 2544)

ศัตรูพืชที่กำจัดได้

หนอนผีเสื้อต่างๆ เช่น หนอนกอสีชมพู หนอนม้วนใบ หนอนกระทู้ผัก หนอนใยผัก หนอนคืบ หนอนเจาะสมออเมริกัน หนอนกินใบ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยหอย เพลี้ยไฟ บั่ว ด้วงดีดมวนต่างๆ แมลงหวี่ขาว และแมลงอื่นๆ (ปรีชา , 2542)

พืชที่ใช้

ผัก ข้าว กาแฟ ชา ส้ม อ้อย ยาสูบ กล้วย ฝ้าย สัปปะรด ข้าวโพด ถั่วลิสง สตรอเบอรี่ มันฝรั่ง องุ่น ไม้ผล พืชสวน ไม้ดอกและไม้ประดับทั่วไป

สูตรผสม

50% อีซี และ 3% ดี

อัตราการใช้

ชนิด 50% อีซี ใช้ 10 – 20 ซีซี ผสมกับน้ำ 20 ลิตร หรือศึกษาการใช้เพิ่มเติมจากฉลาก

วิธีใช้

ผสมกับน้ำกวนให้เข้ากันดี แล้วฉีดพ่นให้ทั่วใบ และต้นพืชฉีดซ้ำได้ตามความจำเป็น

ยาแก้พิษ (ปรีชา , 2542)

อะโทรปิน ซัลเฟท โดยใช้ฉีดแบบ IV ขนาด 2 - 4 มก. ฉีดซ้ำทุก 10 – 15 นาที จนอาการดีขึ้น ยา 2 – PAM , PAM , 2 – PAMM , และ toxogonin เป็นยาแก้พิษที่ใช้ร่วมกับอะโทรปินได้ ห้ามใช้ morphine , theophylline และ aminophylline

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

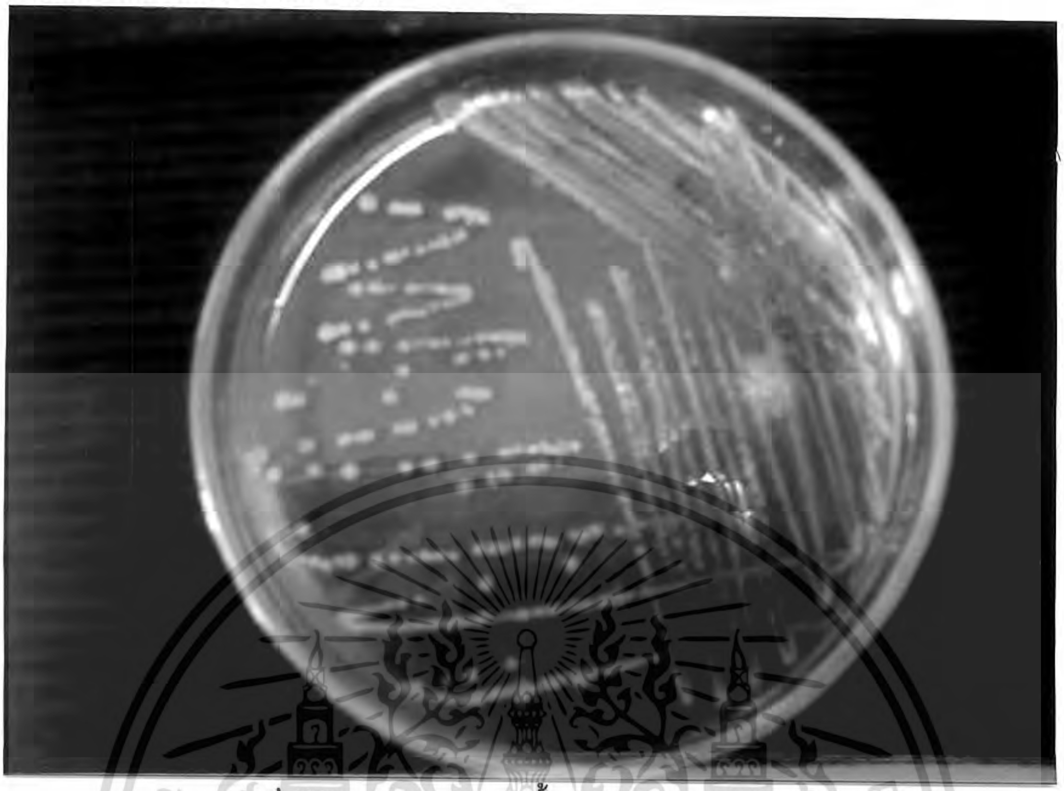
ข้อควรรู้

- ระยะเวลาที่ใช้ก่อนการเก็บเกี่ยว 14 วัน
- เป็นพิษต่อปลา ผึ้ง กุ้งและปู
- ห้ามบุคคลที่ไม่สวมใส่เครื่องป้องกันเข้าไปในพื้นที่ที่ฉีดพ่นแล้วอย่างน้อย 48 ชั่วโมง
- ไม่เข้ากับสารเคมีสภาพเป็นด่าง
- ไม่มีความคงตัวในดิน

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *Bacillus subtilis* (Ehrenberg)



รูปที่ 2 แสดงลักษณะของเชื้อ *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis เป็นเชื้อจุลินทรีย์ชนิด aerobic หรือ facultatively anaerobic สร้าง catalase มี endospore รูปไข่ กลม หรือ ทรงกระบอก ติดสีแกรมบวกหรืออาจติดสีแกรมหลากหลาย (gram variable) อยู่ในตระกูล Bacillaceae พบได้ทั่วไปในดินและพืช เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ไม่ก่อให้เกิดโรค (non – pathogen) ต่อคนและสัตว์ ยกเว้น บาง species เช่น *Bacillus anthracis* (ซึ่งก่อให้เกิดโรคแอนแทรกซ์) และ *Bacillus cereus* ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษ เป็นต้น รูปร่างของ *Bacillus subtilis* มีลักษณะเป็นท่อนๆ ลักษณะตรงหรือโค้ง ขนาด 0.5 – 2.5 × 1.2^{10} mm. กลุ่มของเซลล์ จะอยู่ในรูปเส้นตรงหรือเป็นลูกโซ่สั้นๆ สปอร์จะมีลักษณะเป็น oval เคลื่อนที่โดยใช้ flagella มีประมาณ 8 – 12 peritrichous flagella (Arthur et al. ,1962)

Bacillus subtilis ถูกจัดจำแนกอยู่ใน

Division	Bacteria
Class	Schizomycetes
Order	Eubacterials
Family	Bacillaceae
Genus	*Bacillus*
Species	*subtilis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มี endospore ซึ่งทำให้ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่ดีได้ เจริญได้ดีที่ pH 5.5 – 8.5 สร้าง hydrolytic enzyme ที่สลาย polysaccharide , nucleic acid และ lipid โดยใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนและแตกตัวให้อิเลคตรอน มีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน *Bacillus subtils* สามารถปล่อยเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีนได้

เอนไซม์โปรติเอส (protease)

เอนไซม์โปรติเอสเป็นเอนไซม์กลุ่มใหญ่ มีหน้าที่ในการย่อย พันธะเปปไตด์ ดังนั้นเอนไซม์นี้จึงมีบทบาทสำคัญอย่างมากในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในการตัดเปลี่ยนโปรตีนและเอนไซม์ตัวอื่นๆ เพื่อทำหน้าที่ต่างๆ ในการดำรงอยู่อย่างสมดุล ในสมัยเริ่มแรก เอนไซม์โปรติเอสจะแบ่งออกตามขนาดของโมเลกุล ประจุและความจำเพาะเจาะจงกับสับสเตรท (substrate) ปัจจุบันได้มีการจัดระบบที่ใช้หลัก การทำงานของเอนไซม์ที่บริเวณเร่งปฏิกิริยา (active site) นอกจากนี้ ในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ เอนไซม์ ที่ทำปฏิกิริยาที่ C – terminal หรือ N – terminal ของสายโพลีเปปไทด์ เรียกว่าเอนไซม์เอกโซเปปติเดส (exopeptidase) และเอนไซม์ที่ตัดภายในสายโพลีเปปไทด์เรียกว่า endopeptidase (เสาวนีย์, 2548)

International Union of Biochemistry (IUB) แบ่ง เอนไซม์เป็น 4 กลุ่มตามการทำงานบริเวณเร่งปฏิกิริยา (active site)

1. Serine protease (EC 3.4.21) โดยที่ active site มีกรดอะนิโน serine และ histidine
2. Cysterine protease of thiol protease (EC 3.4.22) active site มี cysterine และ histidine
3. Aspartic protease(EC 3.4.23) active site มี กรดอะนิโนที่เป็นกรด (acidic amino acids)
4. Metalloprotease (EC 3.4.24) active site มี กรดกลูตามิคและอะตอมโลหะ(metal atom)

เอนไซม์โปรติเอสได้มีการศึกษาและแบ่งกลุ่มมากมายทั้ง ลำดับกรดอะมิโนและโครงสร้างสามมิติ serine protease แบ่งออกเป็น 2 family คือ mammalian serine protease และ bacterial protease , thermolysin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำงานของเอนไซม์โปรติเอส

กระบวนการเกิดการสลายพันธะเปปไทด์ (peptide bond) คือ polarization ของพันธะเปปไทด์ โดย nucleophillic attack ที่ตำแหน่งพันธะ carbon – oxygen ทั้งโดยตรงหรือผ่านโมเลกุลของน้ำ ปฏิกิริยาจะมีการให้โปรตรอนกับ peptide nitrogen หรือที่เรียกว่า leaving group ในแต่ละกลุ่มหรือ family ของโปรติเอสจะมีชุดของ กรดอะมิโนที่ทำให้เกิดตำแหน่ง active site ต่างๆกัน (เสาวนีย์, 2548)

การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคพืช

มณจันทร์ และ ชัยวัฒน์ (2535) ได้ศึกษาการใช้ *Bacillus subtilis* AP01 ในการป้องกันกำจัด เชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า การใช้ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* AP01 ในผงลามิน่า คือ 1×10^9 cfu / g ในอัตรา 2.5 กรัมต่อน้ำกลั่น 250 cc. ในอาหาร PDA พบว่า *Bacillus subtilis* AP01 สามารถยับยั้งโคโลนีของเชื้อรา *P. palmivora* ได้

องอาจ และ คณะ (2535) รายงานว่า การควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ของกิ่งส้มเขียวหวาน โดยใช้ผงจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ผสมกับรำข้าว ปุ๋ยหมัก และ กากอ้อย ในอัตรา 1 : 3 และคลุกให้ทั่วใส่รอบโคนต้นส้ม และหลังใส่ผงยาเชื้อ 20 – 23 วัน ก็ย้ายกิ่งตอนส้มเขียวหวานที่มีเชื้อ *P. parasitica* ลงปลูก พบว่า การใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* (B – 03) มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มเขียวหวานได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma hazianum* (T – 13) , *Penicillium* sp. (P – 15) และ *Pseudomonas* sp. (Ps – 2)

อุรัจฉทา และ คณะ (2535) คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. solanacearum* จากบริเวณรากและดินที่ปลูกมะเขือเทศที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคได้ 154 isolate จากดินปลูกอ้อย 20 isolate และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CH 4 1สายพันธุ์ สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้ง *P. solanacearum* ได้ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ NA1 , NA25 , NA37 , PH9 , SU1 และ CH 4 จากการทดลองในสภาพเรือนทดลอง พบว่า การปลูกเชื้อโดยวิธีตัดรากด้านเดียวแล้วลดสารละลายเชื้อแอนทาโกนิสต์ทันที ทุกสายพันธุ์สามารถควบคุมโรคได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alippi et al. (1994) รายงานว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* , *Bacillus pumilus, Bacillus licheniformis* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pythium ultimum* และ *Furasium solani* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค damping – off ของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการได้

Hamed (1999) ได้ทดลองนำเอาเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* 2 isolate มาทำการทดสอบเพื่อศึกษาว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pythium ultimum* และ *Furasium oxysporum* ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง จากผลการทดลอง พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* 2 isolate มีความสามารถในการต่อต้านการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลองได้

Sarhan et al. (2001) รายงานว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย การเจริญของเส้นผ่าศูนย์กลาง การงอกของสปอร์ และความยาวของ germ – tubes ของ *Furasium oxysporum* รวมทั้งการสร้างกรด fusaric โดยการพ่นสารละลายสปอร์ของ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในเมล็ดที่เพิ่งงอกของมะเขือเทศ เพื่อลดการเกิดโรคเหี่ยว

นอกจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จะช่วยในการควบคุมโรคพืชได้แล้ว ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายๆ ด้านทั้งการแพทย์และด้านอุตสาหกรรม ดังต่อไปนี้

1. *Bacillus subtilis* ใช้เป็นประโยชน์ในการทำ clinical assays เช่น
   - Hexachlorophene assays (*Bacillus subtilis* ATCC 6533)
2. นำไปใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการฆ่าปลอดเชื้อ และในการเก็บถนอมอาหารและยา (*Bacillus subtilis* NCTC 10073)
3. เป็นแหล่งผลิตยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ เช่น
   - bacitracin , subtilin , mersacidin
4. สามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา เช่น itulin , surfactin
5. สามารถสร้างเอนไซม์ และสารยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitor) หลายชนิด
6. สามารถสร้าง Biocompounds ที่เป็นประโยชน์ในการกำจัดแมลงที่เป็นศัตรูพืช เช่น
   - crystal protein
   - biosporin probiotic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ Pseudomonas sp. **(Migula)**

รูปที่ 3 แสดงลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas* sp.

ถูกจัดจำแนกอยู่ใน

Division Bacteria

Class Schizomycetes

Order Eubacterials

Family Pseudomonaceae

Genus *Pseudomonas*

เป็นแบคทีเรียจำพวก chemoorganotrophic aerobic G (-) rod ที่มีความสามารถในการใช้สารอาหารได้หลากหลายชนิด ทำ respiratory metabolism ไม่ทำ fermentation ไม่ทำ photosynthesis และไม่ทำ N_2 fixation มีการเคลื่อนที่ด้วย polar flagella

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonas* พบได้ในสภาพแวดล้อมแทบทุกประเภท เนื่องจากมีความสามารถในการใช้สารอาหารได้หลากหลายชนิดมากมาย แต่ต้องเป็นสภาวะที่ไม่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป และไม่มีระดับอุณหภูมิสูงเกินไป แต่อาจพบบ้างในที่อุณหภูมิต่ำ ทำการย่อยสลาย glucose โดยผ่านวิถี Entner – Doudoroff ซึ่งมีเอนไซม์หลักคือ 6 – phosphogluconate dehydrase และ ketodeoxyglucosephosphate ซึ่งไม่พบใน G (+)

แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสำคัญต่อ global carbon cycle สามารถย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ได้หลายชนิด ที่น่าสนใจคือ สารประกอบประเภท aromatic ซึ่งพบว่า สารประกอบที่มี benzene nucleus เป็นสารอินทรีย์ที่มีมากในสภาพแวดล้อมของสิ่งมีชีวิต *Pseudomonas* สามารถย่อยสลายสารจำพวกนี้ได้ดี แม้กระทั่งสารอินทรีย์ประเภทที่มนุษย์สร้างขึ้น หรือที่เรียกว่า xenobiotic compounds โดยที่ *Pseudomonas* มีเอนไซม์หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งจำพวก dioxygenase ซึ่งใช้ในการย่อยสลายสาร aromatics จำพวก benzoate , phenol , salicylate และ naphthalene ให้เป็น catechol หรือ protocatechuate ซึ่งจะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น intermediates ที่จะเข้าสู่ TCA cycle ได้ซึ่งก็คือเข้าสู่วิถีการย่อยสลายสารอาหารปกติของแบคทีเรียนั่นเอง

ประโยชน์ของเชื้อ *Pseudomonas* sp.

งานด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น psychrotrophic authentic *Pseudomonads* สามารถผลิต thermal resistant lipase ซึ่งปัจจุบัน เอนไซม์ lipase มีความสำคัญในทางเทคโนโลยีชีวภาพ เนื่องจากความสามารถของเอนไซม์ในการทำ esterification ให้ได้ glycerides ชนิดต่างๆ นอกจากนี้ *Pseudomonads* บางสายพันธุ์สามารถผลิต lipase ที่ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งเหมาะสมกับการใช้เติมในผงซักฟอกหรือน้ำยาทำความสะอาด เพื่อช่วยขจัดคราบไขมันต่างๆ ได้ lipase ที่ได้นี้มีความทนทานต่อสภาวะที่เป็นด่าง ทนต่อสารฟอกขาวต่างๆ และยังทนทานต่อเอนไซม์ protease ที่มีในสูตรน้ำยาทำความสะอาดด้วย

งานด้านเกษตรกรรมพบว่าสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ด้วย พบว่า *P . fluorecens* สามารถผลิต phenazine – 1 – carboxylic acid ซึ่งมีฤทธิ์เป็น antibiotics ซึ่งช่วยป้องกันโรคในต้นข้าวสาลีที่เกิดจากเชื้อ *Gaeumannomyces graminis*

บางสายพันธุ์ยังสามารถผลิต secondary metabolites ได้หลายชนิด เช่น HCN , 2,4 – diacetylphloroglucinol , pyoluteorin และ indole – 3 – acetic acid โดยเฉพาะ 2 ชนิดแรกนั้นได้ทดสอบแล้วว่ามีฤทธิ์ยับยั้งโรคเชื้อราที่เกิดขึ้นที่รากพืชได้ด้วย แบคทีเรียจำพวก *Pseudomonads* นี้ยังสร้างสารจำพวก siderophores ซึ่งต้องการธาตุเหล็กในการสร้าง ดังนั้น หากแบคทีเรียเหล่านี้อาศัยอยู่บริเวณรากพืช จะต้องดึงธาตุเหล็กที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมรอบๆ เซลล์มาใช้ในการสร้าง siderophores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สามารถใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้เชื้อโรคอื่นๆ ที่บริเวณรอบๆรากพืชขาดธาตุเหล็กและตายได้ ช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดีขึ้น แบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* , *P.putida* , *P. fluorescens* และ *P. syringae* สามารถผลิต fluorescent pigment สีเขียวออกเหลือง เรียกว่า pyoverdines เป็น pjgment ที่สามารถรวมตัวกับธาตุเหล็กเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้ดี สามารถทำหน้าที่เช่นเดียวกับ siderophores ในการช่วยการเจริญเติบโตของต้นไม้ได้ดี pyoverdines บางชนิดอาจเรียกชื่ออีกอย่างว่า pseudobactins

ที่น่าสนใจอีกอย่างคือ คุณสมบัติของ *P. syringae* ในการทำให้เกิดความเสียหายแก่โรคพืช โดยทำให้เกิดอาการที่เรียกว่า ice nucleation คือการที่แบคทีเรียนี้มี protein membrane ที่จะเกิดจากความเย็นจัดและแข็งตัวได้ที่อุณหภูมิไม่ต่ำมากนักคือประมาณ – 2 C^0 ซึ่งปกติแล้วหากแบคทีเรียนี้อยู่ในต้นพืช จะก่อความเสียหายให้แก่พืชอย่างมาก วิธีการป้องกันทำโดยการใช้สายพันธุ์ที่ถูกดัดแปลงทางพันธุกรรมให้ไม่สามารถสร้าง ice nucleation เข้าแทนที่สายพันธุ์ธรรมชาติที่จะทำลายพืชได้นั้น ขณะเดียวกัน ice nucleation protein ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการทำหิมะเทียมในสถานที่เล่นสกี นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาเพื่อใช้แทน silver iodine ในการทำฝนเทียม และเพื่อการใช้ในกระบวนการผลิตอาหารแช่แข็งอีกด้วย (เสาวนีย์ , 2548)

เชื้อ ***Bacillus thuringensis*** **(Berliner)**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4 แสดงลักษณะของเชื้อ *Bacillus thuringensis*

ถูกจัดจำแนกอยู่ใน

Division Bacteria

Class Schizomycetes

Order Eubacterials

Family Bacillaceae

Genus *Bacillus*

Species *thuringensis*

แบคทีเรียพวกนี้จะเปลี่ยนแปลงรูปร่างเซลล์ทั้งเซลล์ไปเป็น endospore รูป oval shape ในการทำ sporulation เป็นพวก facultative aerobes และสามารถทำ fermentation กับน้ำตาลได้บางชนิดและโตได้ในสภาวะ anaerobes ที่มี glucose และมี nitrate เป็น electron acceptor สามารถหลั่งเอนไซม์ออกนอกเซลล์ได้หลายชนิด รวมทั้งเอนไซม์ที่มีความสำคัญในทางอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น amylases , β – glucanse และ proteases

แบคทีเรียชนิดนี้สร้างผลึกโปรตีนที่เป็นพิษต่อแมลง เมื่อตัวอ่อนของยุงกินผลึกโปรตีนนี้เข้าไป ผลึกนี้จะละลายเมื่อพบกับระดับ pH ที่เป็นด่างในทางเดินอาหารของแมลงและจะถูกย่อยด้วย protease จากแมลงทำให้ได้เป็นโปรตีนหน่วยย่อยที่มีพิษสูง ทำให้ลูกน้ำยุงตายในที่สุด องค์การอนามัยโลกได้นำแบคทีเรียนี้มาใช้เป็น biocontrol agent ในการควบคุมลูกน้ำยุงในประเทศทางแถบอากาศร้อนชื้นได้ผลเป็นอย่างดี โดยผลึกโปรตีนที่มีพิษนี้เรียกว่า crystal parasporal body หรือ delta endotoxin แบคทีเรียนี้มีหลายสายพันธุ์ซึ่งแตกต่างกันที่ antigen ที่ flagella ของมันจึงมีการจำแนกตาม serotype ออกได้เป็นหลายสายพันธุ์ ซึ่งบางสายพันธุ์มีพิษต่อลูกน้ำยุงลาย บางชนิดมีพิษต่อหนอนที่เป็นศัตรูต่อกระหล่ำ หรือพืชผักอื่นๆ (เสาวนีย์ , 2548)

เชื้อบีทีสามารถใช้ควบคุมแมลงศัตรูผักชนิดใดได้บ้าง?

เชื้อบีทีที่นิยมใช้ในการควบคุมศัตรูของกล่ำปลีและพืชผักอื่นๆ มีด้วยกันสองสายพันธุ์ คือ สายพันธุ์เคอร์สตากี้ (Bt *kurstaki)* และสายพันธุ์ไอซาวาย (Bt *aizawai)* เชื้อดังกล่าวนี้สามารถควบคุมได้เฉพาะหนอนของผีเสื้อกลางวันและผีเสื้อกลางคืน ไม่สามารถใช้ควบคุมหนอนของพวกด้วงหรือของแมลงอื่น ๆ ได้

สำหรับผลิตภัณฑ์เชื้อบีทีอื่นๆ ได้มีการพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ สำหรับควบคุมศัตรูพืชที่ไม่เกี่ยวข้อง เช่น เชื้อบีทีสายพันธุ์ เทเนไบรโอนีส (Bt *tenebrionis)* ใช้ชื่อการค้าโนโวดอร์ (Novodor®) สามารถใช้ควบคุมหนอนของพวกด้วงบางชนิด ส่วนบีทีที่อยู่ในรูปอื่นๆได้มีการนำไปใช้ในการควบคุมลูกน้ำยุง และหนอนทำลายเห็ด (fungus gnat) ในโรงเรือน ฯลฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

98817

ในทางการค้าได้มีการผลิต Bt *kurstaki* และ Bt *aizawai* ออกมาในสูตรต่างๆ มากมาย สำหรับใช้กับพืชผัก ดังนั้นวิธีเดียว ที่จะทำให้ทราบแน่ชัดว่าเชื้อบีทีใดมีประสิทธิภาพในการ ควบคุมศัตรูพืชเป้าหมายดีที่สุด ก็คือทำการทดสอบเชื้อนั้นใน พื้นที่แต่ละท้องถิ่น

ข้อแตกต่างระหว่าง Bt *kurstaki* และ Bt *aizawai* โดยทั่วๆ ไปมีดังต่อไปนี้

Bt *kurstaki*: ควบคุมหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* หรือ DBM) หนอนคืบกะหล่ำ (*Trichoplusia* sp.) หนอนผีเสื้อกะหล่ำ (*Pieris* sp.) และ หนอนเจาะผลมะเขือเทศ (*Heliothis/Helicoverpa* sp.) ขอให้ระลึกเสมอว่า Bt *kurstaki* ที่ ผลิตเป็นการค้าแต่ละผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกัน ผลิตภัณฑ์ Bt *kurstaki* บางผลิตภัณฑ์(ไม่ใช่ทุกผลิตภัณฑ์)มีประสิทธิภาพ ในการควบคุมกลุ่มหนอนกระทู้ (*Spodoptera litura*) ขนาดเล็กได้

Bt *aizawai*: ควบคุมหนอนใยผัก หนอนคืบกะหล่ำ หนอนผีเสื้อกะหล่ำ และหนอนเจาะผลมะเขือเทศ โดยทั่วไป ผลิตภัณฑ์ Bt *aizawai* จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมกลุ่ม หนอนกระทู้ผักขนาดเล็กๆ ได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์ Bt *kurstaki* นอกจากนี้ Bt *aizawai* ยังอาจสามารถควบคุมหนอนใยผัก ในพื้นที่ที่หนอนใยผักมีการพัฒนาความต้านทานต่อเชื้อ Bt *kurstaki*

การสลายตัวของสารเคมีกำจัดแมลงโดยขบวนการทางชีววิทยา

จุลินทรีย์ในดิน ได้แก่ bacteria fungi และ actinomycete มีบทบาท สำคัญในการย่อยสลายสารเคมีกำจัดแมลงในดิน ซึ่งจุลินทรีย์มีระบบเอนไซม์ เพื่อเปลี่ยนแปลงสารเคมีกำจัดแมลงมาเป็นประโยชน์ในด้านธาตุอาหารและแหล่งพลังงาน ทั้งนี้การใช้ประโยชน์อาจเป็นในรูปของแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน หรือธาตุอาหาร

ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในดิน ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของสารเคมีกำจัดแมลงในดินได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น การถ่ายเทอากาศ ความเป็นกรดเป็นด่าง ปริมาณอินทรียวัตถุ และคุณสมบัติของสารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งจากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า การเพิ่มอุณหภูมิ ทุก 10 C ทำให้อัตราการสลายตัวของสารเคมีกำจัดแมลง โดยจุลินทรีย์เพิ่มเป็น 2.5 - 3 เท่า และอัตราการสลายตัวจะเพิ่มขึ้นด้วย เมื่อเพิ่มความชื้นของดินจากสภาพแห้งแล้งไปจนถึงจุดความชื้นของดิน อุณหภูมิและความชื้นของดิน ทั้งนี้ในสภาพแปลงปลูกพืช อุณหภูมิและความชื้นมักมีการเปลี่ยนแปลงเสมอๆ ซึ่งจะส่งผลต่อการสลายตัวของสารเคมีกำจัดแมลงด้วย

การสลายตัวของสารเคมีกำจัดแมลงโดยจุลินทรีย์ในดิน มีความสำคัญต่อการคงสภาพหรือการตกค้างของสารเคมีกำจัดแมลงอย่างยิ่ง นอกจากปัจจัย ด้านต่างๆที่มีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ ดังที่กล่าวมาแล้ว ชนิดของสารเคมีกำจัดแมลง อัตราการใช้ และจำนวนครั้งที่ใช้ก็มีส่วนในการส่งเสริมหรือลดอัตราการสลายตัวของจุลินทรีย์ได้ โดยสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดอาจทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้ย่อยเฉพาะสารเคมีกำจัดแมลงชนิดนั้นๆมากขึ้น ส่งผลให้อัตราการสลายตัวของสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในครั้งต่อไปเพิ่มขึ้น (พนิดา , 2538)

Gas Chromatography , GC

เป็นเครื่องมือที่ใช้แยกและวิเคราะห์สารทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ เทคนิคของ Gas Chromatography คือ แยกของผสมให้เป็น gas phase ที่อุณหภูมิหนึ่งๆ แล้วผ่านไปยังคอลัมน์ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ (stationary phase) มาสัมผัสกับตัวกลางที่อยู่กับที่นั้น ซึ่งสารแต่ละชนิดมีพฤติกรรมในการแยกตัว (partition) ต่างกัน ทำให้เมื่อ mobile phase พาสารเคลื่อนที่ผ่านไปตาม stationary phase ในช่วงเวลาหนึ่งๆ สารแต่ละตัวจะถูกแยกจากกันได้ในเวลาที่ต่างกัน

Gas Chromatography แบ่งตาม stationary phase เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้ดังนี้

1. **Gas – Solid Chromatography หรือ GSC**

วิธีนี้ใช้เฟสคงที่เป็นของแข็งที่สามารถดูดซับ (adsorption) สารที่เป็นแก๊สซึ่งต้องการแยกได้ และไม่มีสารอื่นใดเคลือบอยู่ ส่วนใหญ่แล้ววิธีนี้ค่อนข้างจะแคบ เพราะใช้แยกเฉพาะสารที่เป็นแก๊สหรือสารที่เป็นโมเลกุลเล็กๆ เท่านั้น ดังนั้น คอลัมน์ที่ใช้มักจะบรรจุด้วย active solids เช่น molecular sieves หรือ porous polymers , silica gel , alumina และ activated carbon เป็นต้น

2. **Gas – Liquid Chromatography หรือ GLC**

สารที่เป็นแก๊สหรือไอของสารที่ผสมกันอยู่ เมื่อผ่านคอลัมน์จะสามารถแยกออกจากกันได้ด้วยการกระจายตัวที่แตกต่างกันของแก๊สหรือไอระหว่างเฟสเคลื่อนที่กับเฟสคงที่ที่มีของเหลว (liquid phase) ฉาบอยู่บนของแข็ง หรือมีค่า partition coefficient ต่างกัน วิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางสำหรับแยกสารที่เป็นแก๊สหรือสารที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นไอหรือแก๊สเฟสได้ที่อุณหภูมิกำหนด เมื่อปี 1952 A.J.P. Martin และ R. L. M.Synge เป็นผู้ได้รับรางวัลโนเบล (Nobel Prize) จากการค้นพบ Partition - Chromatography ทำให้สภาพไว ความรวดเร็ว ความเที่ยงและความง่ายของวิธีนี้ช่วยให้การแยกสาร การวิเคราะห์สาร และการหาปริมาณของสารระเหยได้รับความนิยมอย่างรวดเร็ว และมีผลงานวิจัยตีพิมพ์ออกเป็นจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการวิเคราะห์การทำงานของ Gas Chromatography

1. ถังแก๊สที่ใช้บรรจุตัวพา (carrier gas) เพื่อจะพาไอของสารตัวอย่างผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียม อาร์กอน เป็นต้น
2. ส่วนที่ใช้ควบคุมการไหลของแก๊สต่างๆ (flow controller) ได้แก่ ไฮโดรเจน อากาศ และไนโตรเจน เป็นต้น
3. ส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (injection port)
4. คอลัมน์ (column) ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดที่ใช้สำหรับแยกสาร
5. ดีเทคเตอร์ (detector) เป็นส่วนที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์
6. ส่วนที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิ (temperature controller) ให้กับคอลัมน์ดีเทคเตอร์ และ injector
7. ส่วนที่ใช้ประมวลผลและข้อมูลต่างๆ ได้แก่ อินทิเกรเตอร์ เครื่องบันทึกโครมาโทแกรม หรือ data processor หรือ คอมพิวเตอร์

ดังนั้น ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างโดยใช้เทคนิคทาง GC นั้น สามารถแสดงให้เข้าใจได้ง่ายๆ ดังนี้ คือ เมื่อเลือกสภาวะต่างๆ ของการวิเคราะห์ และจัดสภาวะของเครื่อง GC ให้เรียบร้อยแล้ว จึงนำสารตัวอย่างไปฉีดเข้าที่ sample injection port สารจะกลายเป็นไอแล้วถูกพาเข้าไปในคอลัมน์ด้วยแก๊สพา (carrier gas) อย่างช้า สารผสมจะถูกแยกออกเป็นส่วนๆ ที่คอลัมน์นี้ แล้วออกไปสู่ detector จะทำให้ได้สัญญาณเกิดขึ้น ซึ่งสามารถเขียนออกมาเป็นโครมาโทแกรมด้วยเครื่อง recorder หรือต่อเข้ากับ printer หรือ integrator ก็จะทำให้สามารถทราบองค์ประกอบของสารดังกล่าว

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่อง Gas Chromatography มีดังนี้

1. **แก็สพา (carrier gas)**

เป็นแก็สที่ใช้สำหรับพาสารตัวอย่างที่ถูกทำให้เป็นไอหรือแก็สเฟสแล้วที่ injection port ให้เข้าสู่คอลัมน์ต่อไป แก็สพานี้จะต้องมีการควบคุมอัตราการไหล (flow rate) ให้คงที่เสมอ โดยสามารถเลือกใช้อัตราการไหลให้เหมาะสมได้ตามต้องการ อัตราการไหลของแก็สพามีส่วนสำคัญต่อการวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องควบคุมให้คงที่

แก็สพาที่ใช้กันทั่วไป ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียม หรือไฮโดรเจน ลักษณะที่ดีของแก็สพาควรจะเป็น ดังนี้ คือ

1.ควรมีสมบัติเฉื่อย เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับสารตัวอย่างหรือตัวทำละลายหรือเฟสคงที่

2. เป็นแก็สที่มีการแพร่น้อยและมีมวลโมเลกุลต่ำ

3.สามารถจัดหาได้ง่ายและมีความบริสุทธิ์สูง

4.ราคาไม่แพง

5. เป็นแก็สที่เหมาะสำหรับใช้กับดีเทคเตอร์ได้ แก็สพาที่ออกจากท่อแก็สควรทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยให้ผ่านท่อที่บรรจุด้วย molecular sieve เพื่อช่วยขจัดไอน้ำหรือไอน้ำมัน

2. **คอลัมน์ (Columns)**

ถือเป็นหัวใจของการแยกสารด้วยเทคนิคทาง GC เมื่อแก็สผสมหรือไอของสารที่ปนกันอยู่ในสารตัวอย่าง ผ่านคอลัมน์สารที่บรรจุในคอลัมน์เปล่าจะทำหน้าที่เป็นตัวแยกแก็ส หรือไอผสมเหล่านั้นออกจากกันเป็นส่วนๆ ดังนั้น โครมาโทแกรมที่ได้จะดีหรือไม่จึงขึ้นอยู่กับชนิดของคอลัมน์มาก ลักษณะทั่วไปของคอลัมน์จะประกอบด้วยสองส่วน คือ หลอดหรือท่อ (tubing) และ stationary phase ที่บรรจุภายใน ในกรณีที่คอลัมน์มีลักษณะเป็นหลอดแก้วหรือโลหะเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 – 3.5 มม. และ stationary phase ที่มีลักษณะเป็นของเหลวที่เคลือบอยู่บน solid support ที่มีลักษณะเป็นเม็ดๆ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.15 – 0.25 มม. เรียกคอลัมน์ชนิดนี้ว่า packed column นอกจากนี้ยังมีชนิด capillary column เป็นคอลัมน์แบบท่อเปิด liquid stationary phase ที่ถูกเคลือบเป็นชั้นบางๆที่ผนังด้านใน มีความหนา 0.1 – 1 ไมครอน มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในเล็กมาก 0.1 – 0.5 มม. เนื่องจากเป็นคอลัมน์แบบท่อเปิด จึงสามารถมีความยาวของคอลัมน์ได้มากกว่า stationary phase เพราะว่ามี back pressure น้อยกว่า คอลัมน์ชนิดนี้ บรรจุ stationary phase ได้น้อยกว่า packed column มากจึงต้องใช้ตัวอย่างที่มีขนาดน้อยๆเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

capillary column แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

1 . **คอลัมน์แบบ** wcot (Wall – coated open tubular) **เป็นคอลัมน์ที่ได้จากการเคลือบผนังของคอลัมน์ด้วย** liquid stationary phase

2. **คอลัมน์แบบ** plot (Porous layer open tubular) **ผนังภายในช่องจะเคลือบด้วยตัวดูดซับ** (absorbent) **แต่ถ้าเคลือบด้วยตัวดูดซับที่มี** liquid phase **ด้วย เรียกคอลัมน์ชนิดนี้ว่า** scot (Support coated open tubular)

ผนังของ capillary column **ส่วนใหญ่ที่นิยมใช้ทำมาจากแก้ว และ** fused silica(**ทำมาจากซิลิกาออกไซด์** ที่เคลือบด้วย poly – amide)

ประสิทธิภาพของ capillary column **นี้จะสูงมากว่า** packed column การแยกสกัดสารก็จะใช้เวลาน้อยกว่า อุณหภูมิที่ใช้ต่ำกว่าใน packed column **และ**flow rate **ของ** carrier gas ที่ใช้กับ capillary column น้อยกว่าใน packed column **โดยทั่วไปใช้เพียง** 0.5 – 4 ml/ min สำหรับไนโตรเจน และ 1- 10 ml/ min สำหรับฮีเลียม

3. **เครื่องดีเทคเตอร์ (Detectors)**

เป็นเครื่องที่สามารถบ่งบอกว่ามีสารที่ต้องการวิเคราะห์หรือมีสารอื่นที่แตกต่างไปจากแก๊สพาออกมาจากคอลัมน์หรือไม่ ถ้ามีก็จะสามารถวัดได้ว่ามีปริมาณเท่าใดด้วย ดังนั้น ดีเทคเตอร์จึงต้องเป็นเครื่องมือที่มีลักษณะเฉพาะสามารถให้สัญญาณต่างๆ ได้ ให้สภาพไวที่สูงพอ มีการตอบสนองที่ดีในช่วงความเข้มข้นของสารที่กว้างพอ และมีหลากหลายชนิด แล้วแต่งานของห้องปฏิบัติการนั้นๆ

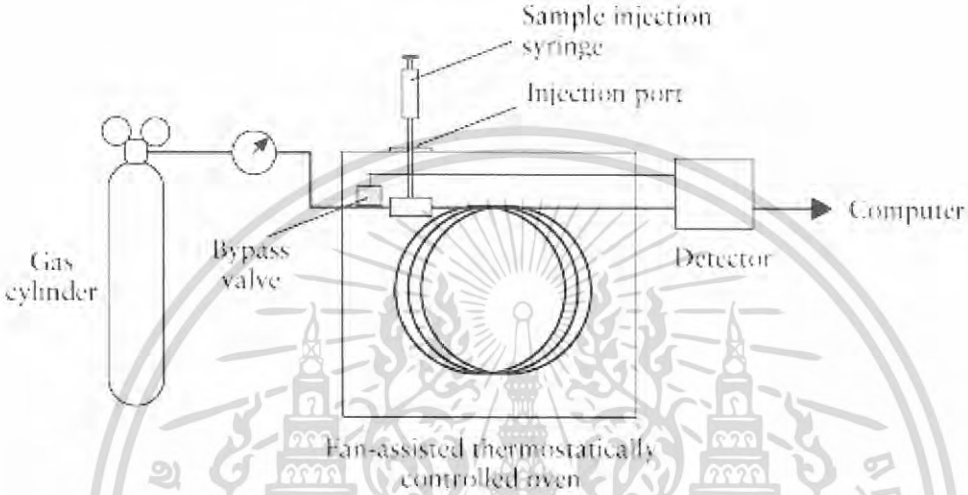
ลักษณะเฉพาะที่ต้องการของดีเทคเตอร์

1. ควรจะต้องให้สภาพไวสูง (high sensitivity) **นั่นคือ** การตอบสนองต่อปริมาณสารควรจะต้องมาก เพื่อที่จะได้สามารถตรวจหาปริมาณของสารน้อยๆได้ หรือมีค่า MDL(minimum detectable level) ต่ำๆ
2. ควรมีความเฉพาะต่อการตรวจหาสารบ้าง เช่น สารต่างประเภทกันควรให้การตอบสนองที่แตกต่างกัน ถ้าดีเทคเตอร์ใดให้การตอบสนองต่อสารทุกประเภทเหมือนๆกัน ดีเทคเตอร์นั้นก็จัดเป็นประเภททั่วๆไป และถ้าดีเทคเตอร์ที่ให้การตอบสนองเฉพาะสารใดสารหนึ่งจะทำให้ดีเทคเตอร์นั้นสามารถตรวจหาสารนั้นๆ ได้อย่างดีในของผสม
3. ควรจะต้องมี dynamic range **ที่กว้าง คือ** ดีเทคเตอร์นั้นควรให้ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณที่มีช่วงความเข้มข้นที่กว้างพอที่จะวัดได้อย่างถูกต้อง
4. **ในทางปฏิบัติ** ดีเทคเตอร์ควรจะต้องมีเสถียรภาพ (stability) และความเที่ยง (reproducibility) **ที่ดีด้วย** มิฉะนั้นค่าที่วัดได้จะไม่มีความถูกต้องและต่างกันจึงใช้ไม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Injection part

เป็นส่วนที่ใช้ฉีดสารเข้าสู่คอลัมน์ ในกรณี packed column **ซึ่งสามารถรับปริมาณสารตัวอย่างได้มาก ระบบจะไม่ยุ่งยาก สามารถฉีดสารเข้าสู่คอลัมน์ได้ โดยใช้เข็ม** (microsyringe) **ฉีดสารตัวอย่างเข้าไปใน** injection part **การตั้งอุณหภูมิที่** injection part **ต้องตั้งให้สูงกว่าจุดเดือดของสารตัวอย่าง**



รูปที่ 5 แสดงส่วนประกอบพื้นฐานการทำงานของเครื่อง Gas Chromatography(สุกัญญา, 2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ของเครื่อง Gas Chromatography

1. ให้ผลการตรวจวิเคราะห์อย่างรวดเร็ว
2. ใช้ตัวอย่างน้อย
3. เชื่อถือได้
4. อ่านผลได้ง่าย
5. อายุการใช้งานนาน

การประยุกต์ใช้

1. สามารถแยกสารผสมได้หลายชนิด รวมทั้งสารที่คล้ายคลึงกัน และสารที่มีส่วนประกอบเหมือนกันได้
2. วิธีการใช้ จะใช้ได้กับตัวอย่างหลายชนิด
3. มีความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์ทางปริมาณและคุณภาพสูงแม่นยำ
4. ใช้ศึกษาโครงสร้างของสารเคมีตามปฏิกิริยาเคมีต่างๆ
5. ใช้ในการวิเคราะห์สารในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น การวิเคราะห์คุณภาพอาหาร การวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชและสารพิษต่างๆ ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม รวมทั้งการศึกษาทางสิ่งแวดล้อม เช่น สารมลภาวะในอากาศ แหล่งน้ำ และดิน (สุกัญญา, 2534)

บทบาทและการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมโดยจุลินทรีย์ในดิน

จุลินทรีย์ในธรรมชาติมีกิจกรรมของระบบเมแทบอลิซึมเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในสิ่งแวดล้อม เช่น มีจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งเจริญอยู่บนอาหารที่เหมาะสมกับมัน เมื่อเวลาผ่านไปอาหารน้อยลงขณะเดียวกันก็มีการขับถ่ายสารที่เป็นพิษออกมา ซึ่งสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปจากเดิมอาจไปเหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งได้ซึ่งจะเจริญขึ้นมาแทนที่โดยทั่วไปจุลินทรีย์กลุ่มแรกมีคุณสมบัติ ดังนี้

1. อัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงกว่า (คิดจากเซลล์) จึงสามารถนำเอาสารอาหารต่างๆเข้าสู่เซลล์ได้มากกว่า
2. มีอัตราการเจริญเร็วกว่า
3. มีความสามารถใช้อาหารที่อยู่แวดล้อมตัวมันได้ดี

ในระบบนิเวศของจุลินทรีย์ตามธรรมชาติมีความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในระบบนิเวศหนึ่งๆ คือ มีจุลินทรีย์ หลายพวกทำให้กิจกรรมทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นเป็นกิจกรรมร่วม ซึ่งไม่เท่ากับผลรวมของแต่ละชนิดมารวมกัน ประชากรของจุลินทรีย์แต่ละชนิดในสิ่งแวดล้อมต่างก็มีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญและอยู่รอดแตกต่างกันไป เมื่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนไปจุลินทรีย์แต่ละชนิดก็มีการปรับตัวเพื่ออยู่ในสภาวะใหม่สืบเนื่องจากระบบเมแทบอลิซึมที่แตกต่างกันของจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์มีแหล่งที่อยู่ (habitat) แตกต่างกันไป ในการเจริญจุลินทรีย์ต้องการสารอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

โดยทั่วไปในธรรมชาติสารอาหารที่ จุลินทรีย์ได้รับมีปริมาณน้อยกว่าในอาหารเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารอาหารก็ไม่แน่นอนซึ่งมีผลต่อการเจริญการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารในธรรมชาติ ก่อให้เกิดสภาพเหมาะสมแก่จุลินทรีย์บางชนิด ขณะเดียวกันการปล่อยสารพิษก็สามารทำลายจุลินทรีย์บางชนิดได้เช่นกัน

ดินเป็นแหล่งรองรับสิ่งต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นซากของสิ่งมีชีวิต วัสดุเหลือใช้ต่างๆ สิ่งเหล่านี้เมื่อลงสู่ดินย่อมถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในดิน สสารบางอย่างถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ดินได้ง่ายบางอย่างยากต่อการย่อยสลาย การเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมบนพื้นดินของจุลินทรีย์ เช่น การกำจัดขยะมูลฝอยไม่ว่าจะเป็นวิธีการเทกองกลางแจ้ง การฝังกลบอย่างถูกสุขลักษณะ หรือการทำปุ๋ยหมักต่างก็เป็นวิธีการที่อาศัยจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารแต่ละวิธีย่อมมีผลต่อสิ่งแวดล้อมต่างกัน การเทกองกลางแจ้งอาจเป็นแหล่งเพาะเชื้อโรคบริเวณนั้นได้และเกิดกลิ่นเหม็น ส่วนการฝังกลบสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายอย่างช้าๆ ภายใต้สภาวะขาดอากาศพวกเชื้อโรคส่วนหนึ่งไม่ตายสามารถซึมลงสู่แหล่งน้ำใต้ดินหรือแหล่งน้ำบริเวณนั้นได้ สำหรับการทำปุ๋ยหมักเป็นวิธีการที่ต้องเสียค่าใช้จ่ายอยู่พอสมควร แต่ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมีน้อยมาก

จากที่กล่าวมาแสดงให้เห็นถึงบทบาทหลักของจุลินทรีย์ในฐานะเป็นผู้ย่อยสลาย (decomposer) ซึ่งมีผลในการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมไม่ว่าจะเป็นพื้นดินในน้ำและอากาศ แต่นอกเหนือจากหน้าที่ผู้ย่อยสลายแล้วจุลินทรีย์บางประเภทยังมีบทบาทเป็นผู้ผลิต (producer) ได้แก่ แบคทีเรียที่ใช้พลังงานจากสารอนินทรีย์ (lithotroph) แบคทีเรียสังเคราะห์แสง สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และสาหร่าย โดยจุลินทรีย์เหล่านี้มีบทบาทเป็นผู้ผลิตที่สำคัญมากในระบบนิเวศทางน้ำ

ดินเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์ ปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินคือ น้ำที่สิ่งมีชีวิตสามารถใช้ได้ (A_w) ปริมาณน้ำในดินขึ้นกับองค์ประกอบของดิน น้ำฝนหรือหิมะ น้ำจากการระบาย และการดูดน้ำไว้ของพืช น้ำอยู่ในดินได้ 2 ลักษณะด้วยกัน คือ โดยการถูกดูดไว้ที่ผิวและเป็นน้ำแผ่นบางๆ คล้ายฟิล์มระหว่างอนุภาคดิน น้ำในดินเป็นตัวละลายสารต่างๆ ไว้ในน้ำ ส่วนผสมทั้งหมด เรียกว่า สารละลายดิน (soil solution) ดินที่มีการถ่ายเทน้ำได้ดี อากาศย่อมผ่านเข้าออกได้สะดวกปริมาณออกซิเจนจึงสูง ส่วนดินที่น้ำขังมีเพียงออกซิเจนที่ละลายในน้ำเท่านั้น และในไม่ช้าถูกใช้หมดโดยจุลินทรีย์ดินบริเวณนี้จึงเกิดสภาพไร้อากาศ กิจกรรมทางชีววิทยาจึงเปลี่ยนไปด้วยปริมาณสารอาหารในดินเป็นปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์มาก จุลินทรีย์เจริญได้ดีที่สุดบริเวณพื้นผิวที่อุดมด้วยสารอินทรีย์ โดยเฉพาะบริเวณรากพืช (rhizosphere) จำนวนและกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินขึ้นกับสารอาหารที่มีอยู่ในดินบางประเภทคาร์บอนไม่ได้เป็นสารอาหารที่มีอย่างจำกัดแต่กลับเป็นสารอนินทรีย์ในรูปที่ใช้ได้ เช่น ธาตุ ฟอสฟอรัส (P) และธาตุไนโตรเจน (N) ที่มีอย่างจำกัดจึงมีผลจำกัดการเจริญของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดินเป็นแหล่งที่อยู่ซึ่งส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โดยทั่วไปในดินมีจุลินทรีย์ $10^6 - 10^9$ / กรัม ซึ่งสูงกว่าในน้ำจืดหรือน้ำทะเล การกระจายตัวของจุลินทรีย์ไม่สม่ำเสมอเมื่อระดับดินลึกลงไป บริเวณหน้าดินที่อุดมด้วยสารอินทรีย์มีจำนวนจุลินทรีย์มากที่สุดโดยเฉพาะบริเวณรากพืช ความแตกต่างของอุณหภูมิของดินขึ้นกับสภาพดินฟ้า อากาศ เช่น ในบริเวณใกล้เส้นศูนย์สูตรดินมีอุณหภูมิสูง ขณะที่ดินบริเวณขั้วโลกมีอุณหภูมิต่ำ ความชื้นขึ้นกับสภาพดินมีน้ำมากหรือน้อย pH มีความผันแปรมากจากสภาพที่เป็นกรดอย่างยิ่งถึงเป็นด่างอย่างแรงค่า Eh (สภาวะออกซิเดชั่น–รีดักชัน)สภาวะการออกซิไดส์ในบริเวณที่ที่อากาศถ่ายเทได้ดี จนถึงสภาวะรีดิวซ์อย่างสูงของดินบริเวณที่น้ำท่วมขังขาดอากาศ พารามิเตอร์เหล่านี้มีอิทธิพลต่อชุมชนของจุลินทรีย์ในดินที่ต่างๆ เช่น พวกเชื้อรา ชอบอยู่ในดินที่มีค่า pH ต่ำ ขณะที่แบคทีเรียส่วนใหญ่พบในที่ pH สูงกว่า ลักษณะของดินไม่ได้เป็นแหล่งที่อยู่ในลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นจุลินทรีย์ที่อยู่ในบริเวณนั้นจึงแปรผันได้ เช่น ดินที่มีอากาศมากสภาพเช่นนี้ไม่ได้มีอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นในแหล่งที่อยู่เดียวกันย่อมมีบริเวณที่มีอากาศและไม่มีอากาศ จึงพบจุลินทรีย์ทั้งพวกที่ต้องการอากาศ และไม่ต้องการอากาศ หรืออยู่ทั้งในสภาวะมีอากาศหรือไม่มีอากาศก็ได้ จากการศึกษาพบว่าที่อยู่ในดินพบแบคทีเรียแกรมบวกในสัดส่วนที่สูงกว่าในน้ำจืดและน้ำทะเล จุลินทรีย์ในดินมีบทบาทหลักในการย่อยสลายและบทบาทในวัฏจักรของธาตุเพื่อรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน การนำสารอินทรีย์คาร์บอนสู่ระบบนิเวศเป็นบทบาทรอง การผลิตขั้นต้นในแหล่งที่อยู่ซึ่งเป็นดินพวกพืชชั้นสูงมีบทบาทที่เด่นชัดกว่า

จุลินทรีย์ในดินชั้นลึก เนื่องจากคุณภาพน้ำใต้ดิน (น้ำบาดาล) เป็นที่สนใจกันมากขึ้นโดยเฉพาะคุณภาพของน้ำทางเคมี การที่มลพิษถูกชะล้างลงสู่ดินชั้นลึกและปนเปื้อนในน้ำใต้ดิน จึงเป็นที่สนใจเกี่ยวกับบทบาทของจุลินทรีย์ในดินชั้นลึก (ดินที่ลึกหลายร้อยเมตรจากผิวดิน) ดินบริเวณนี้ประเภทของจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดคือ แบคทีเรีย ตัวอย่างที่เก็บด้วยวิธีการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆ (aseptic technique) ของดินที่ลึกลงไป 300 เมตร ซึ่งยังคงพบแบคทีเรีย จึงเป็นที่สนใจเกี่ยวกับบทบาทของแบคทีเรียเหล่านี้ ชนิดของแบคทีเรียที่ตรวจพบหลายชนิดไม่ได้มีความสัมพันธ์กับแบคทีเรียในดินบริเวณพื้นผิวหรือหน้าดิน มีหลักฐานยืนยันว่ากิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินชั้นลึกต้องใช้เวลานานมากสำหรับการเปลี่ยนสารอินทรีย์ต่างๆ ให้กลายเป็นแร่ธาตุ ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้สามารถพบได้ในน้ำบาดาล ส่วนศักยภาพในการย่อยสลายสารพิษโดยจุลินทรีย์ในดินชั้นลึกเป็นที่สนใจศึกษากันมาก เนื่องจากสารพิษที่เกิดจากการชะล้างจากผิวดินลงสู่ดินชั้นล่างและปนเปื้อนน้ำบาดาล

แบคทีเรีย เป็นจุลินทรีย์ที่มีจำนวนมากที่สุดในดิน แบคทีเรียจะไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) จัดเป็นพวกเซลล์แบบโปรคารีโอต (procaryote) นิวคลีโอพลาสซึม (nucleoplasm) ของแบคทีเรียไม่แยกจากไซโทพลาสซึม (cytoplasm) ซึ่งเป็นข้อแตกต่างจากเชื้อราโปรโตซัวและยูคารีโอต (eucaryote) อื่นๆ ผนังเซลล์ของแบคทีเรียจะมีสารประกอบหลัก คือ peptidoglycan สืบพันธุ์โดย binary fission การเปลี่ยนทางพันธุกรรมตามธรรมชาติเกิดขึ้นโดยกระบวนการ conjugation และ tranduction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Arthrobacters สมาชิกของแบคทีเรียใน *Arthrobacter* เป็นสมาชิกส่วนใหญ่ของแบคทีเรียดินที่ตรวจพบโดย standard plate count ซึ่งจะพบประมาณ 40 % ของค่า TPC (Total plate count) ติดสีแกรมลบ รูปร่างเซลล์เป็นแท่งยาวบอบบาง และอาจจะมีแขนงเมื่ออายุยังน้อย จัดได้ว่าลักษณะรูปร่างเป็นแบบ pleomorphism และติดสีแกรมลบเมื่อเชื้ออายุน้อย สาเหตุที่พบเป็นปริมาณมากในดินเพราะเชื้อประเภทนี้สามารถใช้อาหารได้กว้าง แต่มันจะเป็นตัวแข่งขันที่แย่ในอาหารที่ย่อยยาก ซึ่งถ้าหากเป็นอาหารที่ย่อยง่าย เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน เชื้อเหล่านี้จะเจริญอย่างรวดเร็วกว่าแบคทีเรียอื่นๆ

Streptomycetes ในดินมีแบคทีเรียอยู่ 3 สกุล ที่พบเป็นจำนวนมากรองจาก*Arthrobacter* sp. คือ *Streptomycetes sp. Pseudomonas sp.* และ *Bacillus sp.*โดยแต่ละชนิดอาจพบได้ระหว่าง 5 – 20 % ของค่า TPC พวก *Streptomycetes sp.* อยู่ใน Order Actinomycetales แบคทีเรียในอันดับนี้ จะมีอยู่ 5 สกุล ที่พบได้ทั่วไปในดิน ประมาณ 90 % ของเชื้อ Actinomycetes ที่แยกได้จากดินจะเป็น *Streptomycetes sp.* ซึ่งเส้นใยแตกแขนงและโคโลนีอัดแน่นบนอาหารวุ้น สืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์และการแตกแขนงของเส้นใย ติดสีแกรมบวก ออกซิไดซ์สารอินทรีย์ได้ ทนอยู่ในดินที่แห้งแต่ทนความแห้งได้น้อยกว่าเชื้อรา โดยทั่วไปไม่ทนสภาวะที่เป็นกรด แบคทีเรียสกุลนี้ส่วนใหญ่จะสร้างยาปฏิชีวนะซึ่งมีสมบัติไปทำลายแบคทีเรียอื่นๆ เชื้อรา สาหร่าย ไวรัส โปรโตซัว ได้เป็นอย่างดี นักจุลชีววิทยาทางดิน S.A. Waksman ได้รับรางวัลโนเบล สาขาการแพทย์ ในปี ค. ศ. 1942 จากการค้นพบยาปฏิชีวนะสเตรปโตไมซิน (streptomycin) แบคทีเรียสกุลนี้ จะสังเคราะห์ยาปฏิชีวนะได้มากมายหลายชนิด

Pseudomonas แบคทีเรีย *Pseudomonas sp.* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นแท่งตรงหรือโค้ง มี polar flagella เป็นพวกต้องการอากาศในการเจริญยกเว้นพวก denitrifying species ซึ่งใช้ NO_3^- เป็นตัวรับอิเลคตรอน ส่วนใหญ่เป็นพวก organotroph มีเพียงเล็กน้อยที่เป็น facultative lithotroph โดยใช้แก๊สไฮโดรเจน หรือ CO เป็นแหล่งพลังงาน แบคทีเรียสกุลนี้ไม่เพียงแต่จะพบในดินยังพบในน้ำจืดและน้ำทะเลอีกด้วย บางชนิดเป็นสาเหตุโรคพืช แต่ส่วนใหญ่ไม่เป็นเชื้อโรคจะอยู่ใกล้ชิดกับพืช แบคทีเรียสกุลนี้ใช้สารอินทรีย์ได้มากชนิด เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน แอลกอฮอล์ น้ำมัน และวัตถุมีพิษบางชนิด มีบางชนิดที่ปล่อยรงควัตถุเรืองแสงโดยเฉพาะในอาหารที่ขาดธาตุเหล็ก ในดินที่เป็นด่างมีธาตุเหล็กต่ำเชื้อนี้อาจเป็นเชื้อโรคเพราะความต้องการธาตุเหล็กของมัน นอกจากนี้เชื้อชนิดนี้ยังสร้างสารพวก siderophore ที่สามารถควบคุมจุลินทรีย์ดินที่เป็นสาเหตุของโรคพืชได้ เชื้อที่สมบัติใกล้เคียงกับ *Pseudomonas sp.* คือ *Xanthomonas* sp . แต่ต่างกันคือ ออกซิเจนเป็นเพียงตัวรับอิเลคตรอนและ NO_3^- ไม่ถูกรีดิวซ์ *Xanthomonas* sp. ส่วนใหญ่เป็นเชื้อโรคกับพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacilli แบคทีเรีย *Bacillus* sp . ติดสีแกรมบวกรูปร่างเป็นแท่ง ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ สร้าง endospore ที่ทนความร้อนได้เป็นพวก organotroph เมแทบอลิซึม เป็นแบบการหายใจ (respiration) หรือการหมัก (fermentation) หรือเป็นทั้ง 2 แบบ มีความหลากหลายมากสำหรับแบคทีเรียในสกุลนี้มีบางชนิดที่เป็น facultative lithotroph ซึ่งใช้แก๊สไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานในที่ขาดสารอินทรีย์คาร์บอน *Bacillus polymyxa* พบว่าสามารถตรึงแก๊สไนโตรเจนได้มีหลายชนิดที่สร้าง lytic enzyme และยาปฏิชีวนะประเภท polypeptide ที่สามารถทำลายแบคทีเรียสกุลอื่นๆ ได้ สารพิษที่สร้างโดย *B . thuringiensis* จะทำลายตัวอ่อน (larvae) ของแมลงจึงนำมาใช้เป็นสารควบคุมโดยชีววิธี แบคทีเรีย *Bacillus* sp. จะทนอุณหภูมิ ได้ในช่วงกว้าง -5 ถึง 75 °C ทน pH ได้ในช่วง 2 – 8 และเกลือยู่ทนได้สูงถึง 25 % ของ NaCl

Clostridium sp. เป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์เช่นกันส่วนใหญ่เป็นพวก stictly anaerobe แต่มีบ้างที่เป็น microaerophilic โคโลนีบนอาหารวุ้นจะมีขนาดเล็ก แต่ไม่ สร้างสปอร์ในที่มีอากาศ แบคทีเรียพวกนี้บางชนิดใช้ในการผลิตพวกตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น อะซิโตน บิวทานอล ส่วนเชื้อ *C. butyricum* และ *C . pasteurianum* สามารถตรึงแก๊สไนโตรเจนได้ แบคทีเรียสกุลนี้พบมากในดิน ตะกอนน้ำจืด ตะกอนน้ำเค็ม มูลสัตว์ ระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ มี 2 ชนิดที่เป็นเชื้อโรค คือ *C. tetani และ C. botulinum sp.* สปอร์ของเชื้อเหล่านี้จะทนอยู่ในดินได้นาน

Azotobactor sp . เป็นแบคทีเรียติดสีแกรมลบ ต้องการอากาศสำหรับการเจริญ แหล่งคาร์บอนเป็นสารอินทรีย์ ตรึงแก๊สไนโตรเจนได้อย่างอิสระและมีประสิทธิภาพสูง ขณะที่สกุลอื่นๆ ก็ตรึงไนโตรเจนได้แต่ไม่ดีเท่า ได้แก่ *Azomonas sp. Derxia sp* . ส่วน *Rhizobium* sp. ก็ตรึงไนโตรเจนได้แบบ symbiosis โดยเชื้อเหล่านี้จะเข้าสู่รากขนอ่อนของพืชตระกูลถั่ว กระตุ้นให้มีการสร้างปม และเจริญอยู่ภายในรากพืชพร้อมตรึงไนโตรเจน

Lactobacillus sp. แบคทีเรียสกุลนี้จะสร้างกรดแลคติก มีบทบาทในการทำไซแลจ (silage) ใช้เป็นอาหารสัตว์ นอกจากนี้ยังใช้ทำผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว ผักผลไม้ดอง และแป้งหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์

วัสดุอุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Nutrient agar (NA)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Nutrient broth (NB)
3. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*
4. เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas sp.*
5. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*
6. จานเลี้ยงเชื้อ (plate)
7. หลอดทดลอง
8. ขวดกลม
9. สำลี
10. Cock borer
11. เข็มเขี่ยเชื้อ
12. ตะเกียงแอลกอฮอล์
13. ตู้บ่มเชื้อ
14. ตู้อบความร้อนแห้ง (hot air oven)
15. หม้อนึ่งอัดไอ(autoclave)
16. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (electronic balance)
17. เครื่องปั่นสารเนื้อละเอียด (homogenizer)
18. เครื่องลดปริมาตรอุณหภูมิต่ำ (rotary evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น B – 169
19. เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้าง Gas Liquid Chromatography (GLC, GC) – FPD ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น 14 A
20. กรวยแก้ว (funnel)
21. หลอดหยด (dropper)
22. ขวดรูปกรวย (erlenmeyer flask)
23. บีกเกอร์ (beaker)
24. ขวดก้นกลม (round evaporation flask and receiving flask)
25. กระบอกตวง (cylinder)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

26. ขวดใส่สาร (vial)
27. ขาตั้ง (stand)
28. ออโตปิเปต (automatic pipette) ขนาด 200 - 1000 ml และขนาด 1 – 5 ml
29. โถดูดความชื้น (desiccator)
30. ตู้ดูดควัน (hood)

สารเคมี

1. Acetone
2. Sodium chloride (NaCl)
3. Sodium sulfate (Na_2SO_4)
4. Dichloromethane
5. Ethyl acetate
6. Silica gel
7. สารละลายมาตรฐาน methyl parathion เข้มข้น 1.088 ppm
8. สารกำจัดแมลง methyl parathion ยี่ห้อ อปาเช่ 3%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ มี 6กรรมวิธี คือ

วิธีที่ 1 อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีสาร methyl parathion ผสมอยู่ 5 ppm โดยมีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.*

วิธีที่ 2 (control) อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีสาร methyl parathion ผสมอยู่ 5 ppm โดยไม่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.*

วิธีที่ 3 อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีสารmethyl parathion ผสมอยู่ 5 ppm โดยมี การปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis*

วิธีที่ 4 (control) อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีสารmethyl parathion ผสมอยู่ 5 ppm โดยไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis*

วิธีที่ 5 อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีสารmethyl parathion ผสมอยู่ 5 ppm โดยมี การปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis*

วิธีที่ 6 (control) อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีสารmethyl parathion ผสมอยู่ 5 ppm โดยไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis*

แล้วนำผลการทดลองที่ได้จากทั้ง 6 กรรมวิธี ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SAS

2. การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

ทำการเลี้ยงเชื้อที่ได้จาก ภาควิชา เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ***Bacillus subtilis*** ไว้ในหลอดอาหาร nutrient agar (NA) แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 20 °C เมื่อจะนำมาใช้ในการทดลองเราจะนำเอาเชื้อที่เก็บไว้เป็น stock culture มาทำการ streak บน plate อาหาร NA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการย่อยสลายสาร methyl parathion

โดยทำการ cork เชื้อแบคทีเรีย ***Bacillus subtilis*** จาก plate อาหาร NA ลงในอาหาร nutrient broth (NB) ที่มีสาร methyl parathion ที่มีความเข้มข้น 5 ppm ผสมอยู่ และทำการทดลองแบบนี้โดยมีการใส่สาร methyl parathion ในปริมาณที่เท่ากัน แต่ไม่มีการ cork เชื้อแบคทีเรีย ***Bacillus subtilis*** ลงไปในอาหาร NB ควบคู่ไปด้วย จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำอาหารเหลวที่มีการปลูกเชื้อและไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย ***Bacillus subtilis*** เหล่านี้ไปทำการตรวจหาปริมาณสาร methyl parathion ทุกๆ 0 , 1 , 4 และ 8 วัน ด้วยเครื่อง Gas Liquid Chromatography (GLC)

4. การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas sp.*

ทำการเลี้ยงเชื้อที่ได้จาก กรมวิชาการเกษตร โดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ***Pseudomonas sp.*** ไว้ในหลอดอาหาร nutrient agar (NA) แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 20° C เมื่อจะนำมาใช้ในการทดลองเราจะนำเอาเชื้อที่เก็บไว้เป็น stock culture มาทำการ streak บน plate อาหาร NA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas sp.* ในการย่อยสลายสาร methyl parathion

โดยทำการ cork เชื้อแบคทีเรีย ***Pseudomonas sp.*** จาก plate อาหาร NA ลงในอาหาร nutrient broth (NB) ที่มีสาร methyl parathion ที่มีความเข้มข้น 5 ppm ผสมอยู่ และทำการทดลองแบบนี้โดยมีการใส่สาร methyl parathion ในปริมาณที่เท่ากัน แต่ไม่มีการ cork เชื้อแบคทีเรีย ***Pseudomonas sp.*** ลงไปในอาหาร NB ควบคู่ไปด้วย จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำอาหารเหลวที่มีการปลูกเชื้อและไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย ***Pseudomonas sp.*** เหล่านี้ไปทำการตรวจหาปริมาณสาร methyl parathion ทุกๆ 0 , 1 , 4 และ 8 วัน ด้วยเครื่อง Gas Liquid Chromatography (GLC)

6. การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*

ทำการเลี้ยงเชื้อที่ได้จาก ภาควิชา เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ***Bacillus thuringiensis*** ไว้ในหลอดอาหาร nutrient agar (NA) แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 20 °C เมื่อจะนำมาใช้ในการทดลองเราจะนำเอาเชื้อที่เก็บไว้เป็น stock culture มาทำการ streak บน plate อาหาร NA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ในการย่อยสลายสาร methyl parathion

โดยทำการ cork เชื้อแบคทีเรีย ***Bacillus thuringiensis*** จาก plate อาหาร NA ลงในอาหาร nutrient broth (NB) ที่มีสาร methyl parathion ที่มีความเข้มข้น 5 ppm ผสมอยู่ และทำการทดลองแบบนี้โดยมีการใส่สาร methyl parathion ในปริมาณที่เท่ากัน แต่ไม่มีการ cork เชื้อแบคทีเรีย ***Bacillus thuringiensis*** ลงไปในอาหาร NB ควบคู่ไปด้วย จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำอาหารเหลวที่มีการปลูกเชื้อและไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย ***Bacillus thuringiensis*** เหล่านี้ไปทำการตรวจหาปริมาณสาร methyl parathion ทุกๆ 0 , 1 , 4 และ 8 วัน ด้วยเครื่อง Gas Liquid Chromatography (GLC)

8. วิธีการสกัดสารจากอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ

8.1 เทอาหารเหลว 100 ml (W) ใส่ลงในบีกเกอร์ เติม อะซิโตน 100 ml (V_{a1}) แล้วทำการปั่น ละเอียดด้วยเครื่องปั่นเนื้อละเอียด (homogenizer) ที่ระดับ high speed ประมาณ 13,500 rpm เป็นเวลา 2 นาที เติม Sodium chloride (NaCl) 15 กรัม และเติม dichloromethane 75 ml (V_{a2}) ทำการปั่นละเอียดอีกครั้งเป็นเวลา 1 นาที

8.2 ถ่ายส่วนใสใส่ลงในขวดรูปกรวย แล้วเติม Sodium sulfate (Na_2SO_4) ประมาณ 1 ช้อนโต๊ะ หรือ 30 กรัม ปิดฝาขวดเขย่าแรงๆ ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที แล้วนำมากรองผ่าน Sodium sulfate (Na_2SO_4) 2 ช้อนโต๊ะ ให้ได้ส่วนที่เป็นของเหลวใส 100 ml (V_b) โดยใช้กระบอกตวง ตวงไว้ จากนั้นถ่ายใส่ลงในขวดก้นกลม และล้างกระบอกตวงด้วย acetone 10 ml 2 ครั้ง แล้วเทรวมลงในขวดก้นกลมอันเดิม

8.3 นำสารละลายในขวดก้นกลมไประเหยด้วยเครื่องลดปริมาตรอุณหภูมิต่ำที่ อุณหภูมิ 40 ° C ความดัน 500 บาร์ จนสารเกือบแห้งให้เติม ethyl acetate 10 ml แล้วทำการระเหยอีกรอบจนสารเกือบแห้งอีกครั้ง

8.4 ใช้ออโตปิเปตดูดสารละลายที่ทำการระเหยแล้วใส่ขวดใส่สาร (vial) แล้วทำการปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate ให้ได้ปริมาตร 5 ml

8.5 นำสารสกัดที่ได้ไปทำการตรวจวิเคราะห์หาสาร methyl parathion ด้วยเครื่อง Gas Liquid Chromatography (GLC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. การตรวจวิเคราะห์หาสาร methyl parathion โดยใช้เครื่อง Gas Liquid Chromatography (GLC)

9.1 ข้อกำหนดของเครื่อง GC – FPD เพื่อการตรวจวิเคราะห์

เครื่องตรวจวัด (detector)	: ชนิด Flame Photometric Detector (FPD)
Colum	: ใช้ packing column ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 mm. ยาว 2.1 m. บรรจุด้วย 3% OV – 1 on 80 /100 support silicon supelcoport
Temperature	: column 230 °C
	: injector 250° C
	: detector 260° C
Carrier gas	: N_2 50 ml / min
	: H_2 35 ml / min
	: air 100 ml / min

9.2 การฉีดสารเพื่อตรวจวิเคราะห์

Calibrate peak ของ standard จนกว่าค่า retention time และค่าความเข้มข้นคงที่ ซึ่งเท่ากับความเข้มข้นของ standard แล้วจึงฉีดสารสกัดจากตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์

หมายเหตุ - ต้อง Calibrate standard ทุกครั้งก่อนทำการฉีดสารสกัดจากตัวอย่างอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ

- ถ้า peak ที่ได้ มีลักษณะหัวตัด จะต้องทำการเจือจาง (dilution) สารสกัดตัวอย่างลงอีกเพื่อให้ได้ peak ที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 . การคำนวณปริมาณทั้งหมดของสาร methyl parathion จากสารสกัดตัวอย่าง

นำพื้นที่ใต้กราฟของสาร methyl parathion ที่ได้จากเครื่องมาทำการคำนวณ เพื่อหาความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่ตกค้างในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ดังนี้

$$P = \frac{R_x \times S \times V_f \times V_b}{R_s \times W \times V_c}$$

เมื่อ P = ความเข้มข้นของสารพิษในตัวอย่าง (ml / L)

R_x = พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง

R_s = พื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐาน

S = ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (mg / L)

V_f = ปริมาตรสุดท้าย final volume (5 ml)

V_b = ปริมาตรทั้งหมดของชั้นอินทรีย์ ($V_{b1} + V_{b2}$, ml)

V_c = ปริมาตรของ aliquot ที่แบ่งมา (100 ml)

W = ปริมาตรของสารตัวอย่าง (ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

1. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas sp.* ในการย่อยสลายสาร methyl parathion

จากการตรวจวิเคราะห์หาสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas sp.* ในการย่อยสลายสาร methyl parathion พบว่า สาร methyl parathion ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ *Pseudomonas sp.* หลังการทดลอง 1,4 และ 8 วันแตกต่างจาก control อย่างมีนัยสำคัญ (P.05) กล่าวคือ เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน สาร methyl parathion ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 2.404 ppm หรือเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับ 53.54 % ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนที่ไม่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.394 ppm หรือเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับ 97.86 % ของปริมาณสารทั้งหมด และเมื่อเวลาผ่านไป 4 วัน สาร methyl parathion ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 2.308 ppm หรือ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 51.40 % ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.366 ppm หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 97.23 % ของปริมาณสารทั้งหมด และเมื่อเวลาผ่านไป 8 วัน สาร methyl parathion ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อมีปริมาณสารเหลืออยู่ 1.632 ppmหรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 36.34 % ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.318 ppmหรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 96.16% (ตารางที่ 1 , รูปที่ 6) จากผลการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas sp.* สามารถย่อยสลายสาร methyl parathion ได้ 44.32 %, 45.83 % และ 59.82 % หลังจากใส่เชื้อแล้ว 1 , 4 และ 8 วัน ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

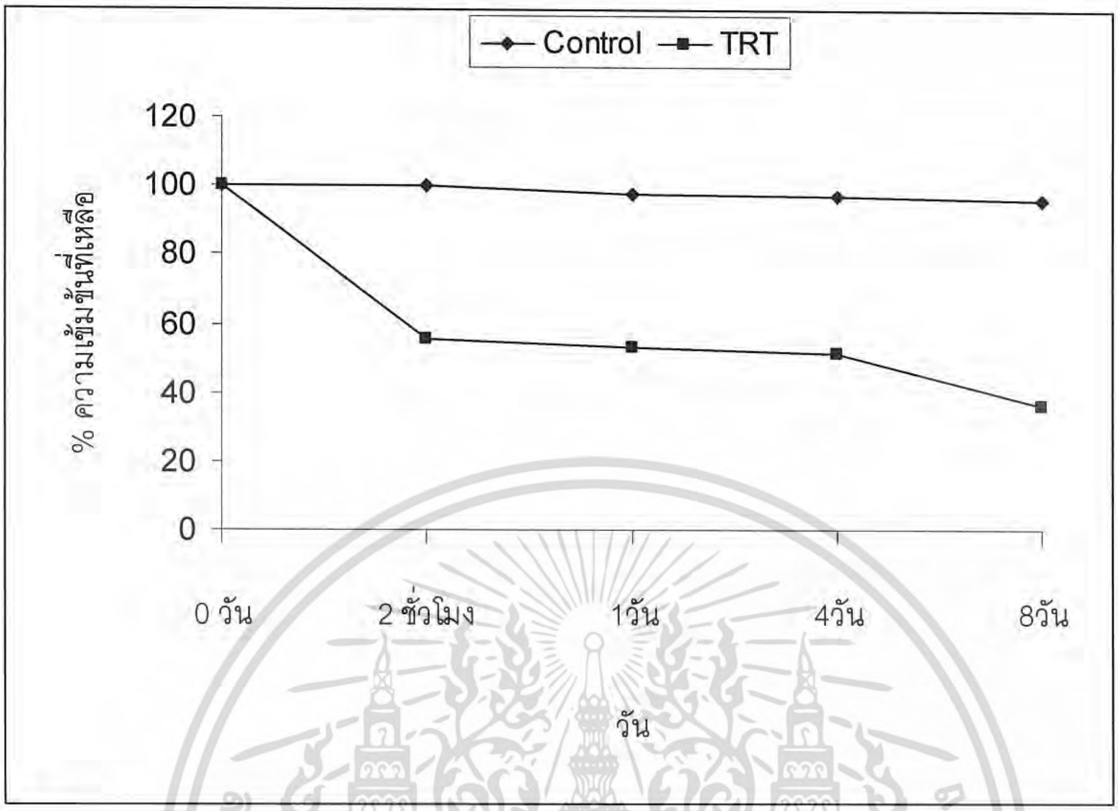
ตารางที่ 1 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย Pseudomonas sp.และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas sp.* ในวันที่ 0, 1, 4 และ 8 วัน

	ปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ (ppm)									
กรรมวิธี	ก่อนการทดลอง		หลังการทดลอง (วัน)							
			2 ชั่วโมง		1 วัน		4 วัน		8 วัน	
	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ
Control	5.000 ± 0.0	100	5.000 ± 0.0	100	4.394 ± 0.081 A	97.86%	4.366 ± 0.011 A	97.23%	4.318 ± 0.070	96.16%
Tret	5.000 ± 0.0	100	2.494 ± 0.030	55.54%	2.404 ± 0.068 B	53.54%	2.308 ± 0.107 B	51.40%	1.632 ± 0.133 B	36.34%

• ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่มีความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6 แสดงปริมาณความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ในวันที่ 0, 1 , 4 และ 8 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ในการย่อยสลายสาร methyl parathion

จากการตรวจวิเคราะห์หาสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ในการย่อยสลายสาร methyl parathion พบว่า สาร methyl parathion ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ *Bacillus thuringiensis* หลังการทดลองที่ 4 และ 8 วัน แตกต่างจากใน control อย่างมีนัยสำคัญ (P.05) กล่าวคือ เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน สาร methyl parathion ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.008 ppm หรือเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับ 89.26 % ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนที่ไม่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.394 ppm หรือเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับ 97.86 % ของปริมาณสารทั้งหมด และเมื่อเวลาผ่านไป 4 วัน สาร methyl parathion ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 3.688 ppm หรือ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 82.13 % ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.366 ppm หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 97.23 % ของปริมาณสารทั้งหมด และเมื่อเวลาผ่านไป 8 วัน สาร methyl parathion ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อมีปริมาณสารเหลืออยู่ 3.132 ppm หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 69.75 % ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.318 ppm หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 96.16% (ตารางที่ 2 , รูปที่ 7) จากผลการทดลองพบว่า เชื้อ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* สามารถย่อยสลายสาร methyl parathion ได้ 8.6 %, 15.1 % และ 26.41 % หลังจากใส่เชื้อแล้ว 1 , 4 และ 8 วัน ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ในวันที่ 0, 1, 4 และ 8 วัน

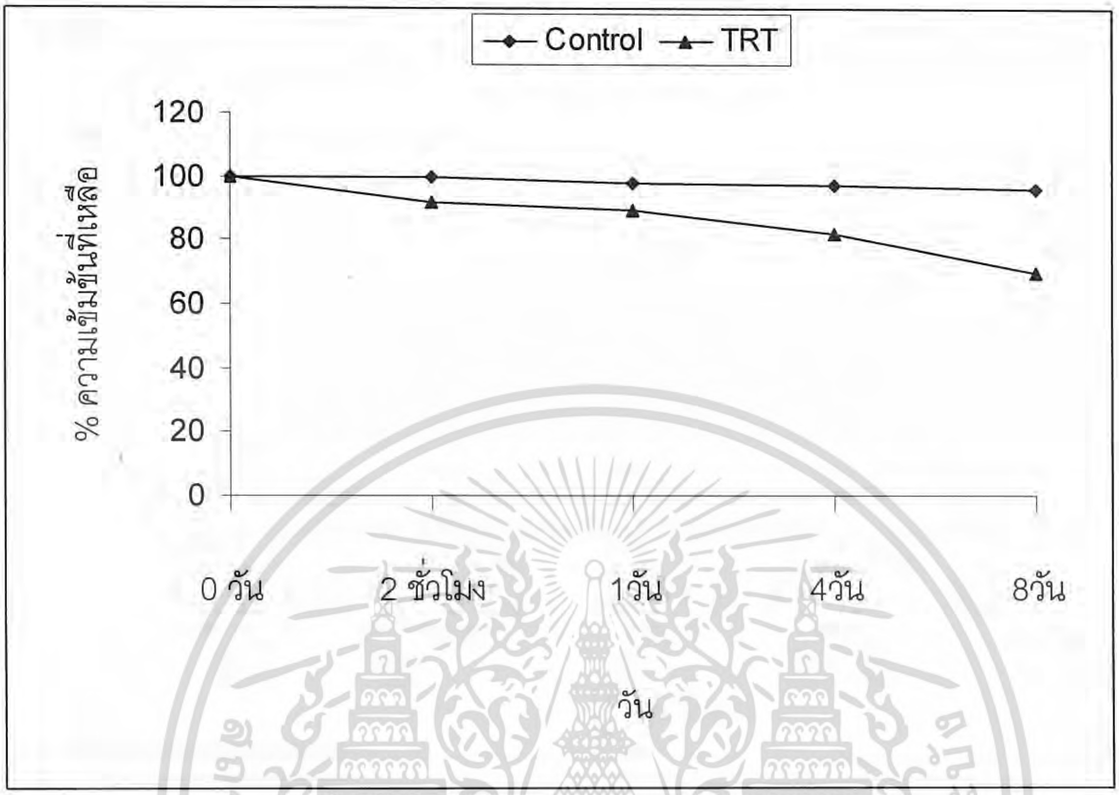
กรรมวิธี	ปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ (ppm)									
	ก่อนการทดลอง		หลังการทดลอง (วัน)							
			2 ชั่วโมง		1 วัน		4 วัน		8 วัน	
	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ
Control	5.000 ± 0.0	100	5.000 ± 0.0	100	4.394 ± 0.081 A	97.86%	4.366 ± 0.011 A	97.23%	4.318 ± 0.070	96.16%
Tret	5.000 ± 0.0	100	4.120 ± 0.047	91.75%	4.008 ± 0.094 A	89.26%	3.688 ± 0.004 B	82.13%	3.132 ± 0.228 B	69.75%

• ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่มีความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 แสดงปริมาณความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ในวันที่ 0, 1 , 4 และ 8 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการย่อยสลายสาร methyl parathion

จากการตรวจวิเคราะห์หาสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการย่อยสลายสาร methyl parathion พบว่า สาร methyl parathion ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่ 4 และ 8 วัน แตกต่างจากใน control อย่างมีนัยสำคัญ (P.05) กล่าวคือ เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน สาร methyl parathion ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.208 ppm หรือเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับ 93.71 % ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนที่ไม่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.394 ppm หรือเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับ 97.86 % ของปริมาณสารทั้งหมด และเมื่อเวลาผ่านไป 4 วัน สาร methyl parathion ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 3.872 ppm หรือ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 86.23 % ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.366 ppm หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 97.23 % ของปริมาณสารทั้งหมด และเมื่อเวลาผ่านไป 8 วัน สาร methyl parathion ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อมีปริมาณสารเหลืออยู่ 3.612 ppm หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 80.44 % ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการปลูกเชื้อ มีปริมาณสารเหลืออยู่ 4.318 ppm หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 96.16% (ตารางที่ 3 , รูปที่ 8) จากผลการทดลองพบว่า เชื้อ แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถย่อยสลายสาร methyl parathion ได้ 4.15 %, 11.00 % และ 15.72 % หลังจากใส่เชื้อแล้ว 1 , 4 และ 8 วัน ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

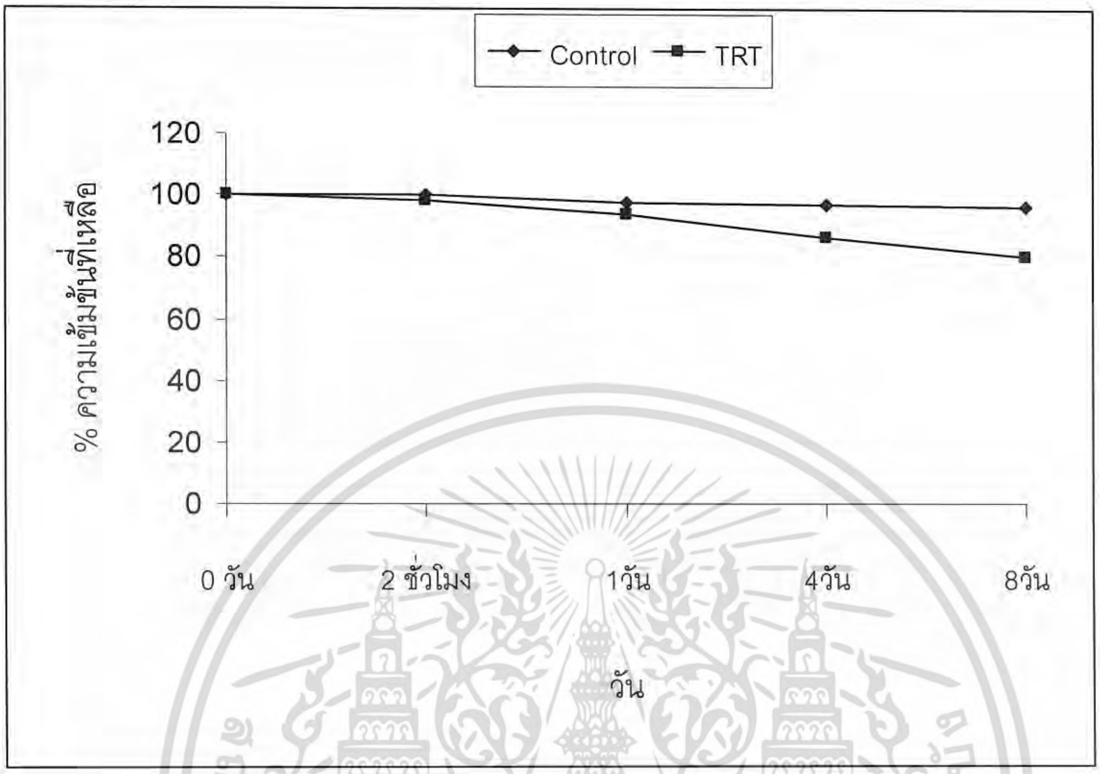
ตารางที่ 3 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในวันที่ 0, 1, 4 และ 8 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ (ppm)									
	ก่อนการทดลอง		หลังการทดลอง (วัน)							
			2 ชั่วโมง		1 วัน		4 วัน		8 วัน	
	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ	ค่าเฉลี่ย• ± S.D.	% ที่เหลือ
Control	5.000 ± 0.0	100	5.000 ± 0.0	100	4.394 ± 0.081 A	97.86%	4.366 ± 0.011 A	97.23%	4.318 ± 0.070	96.16%
Tret	5.000 ± 0.0	100	4.416 ± 0.014	98.35%	4.208 ± 0.056 A	93.71%	3.872 ± 0.113 B	86.23%	3.612± 0.150 B	80.44%

• ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่มีความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 8 แสดงปริมาณความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ในวันที่ 0, 1 , 4 และ 8 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการแยกเชื้อหรือเลี้ยงเชื้อโดยวิธี streak plate แล้วทำการ cork เชื้อ ลงในอาหารเหลว ในบางครั้งพบว่า ถ้าหากตู้เขี่ยเชื้อสกปรกหรือทำการฆ่าเชื้อไม่ดีพอ จะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อตัวอื่นๆ เพราะฉะนั้นก่อนทำการ streak plate หรือ cork เชื้อ ลงในอาหารเหลว ควรจะทำความสะอาดตู้เขี่ยเชื้อให้เรียบร้อยก่อน โดยการฉีด แอลกอฮอล์ 70% ในตู้เขี่ยเชื้อ แล้วควรจะเปิดหลอด UV เพื่อทำการฆ่าเชื้อภายในตู้เขี่ย

การนำดินมาเพื่อหาเชื้อแบคทีเรียในดินนั้น พบว่า เชื้อบางชนิดที่ใช้ในการทดลองพบว่าค่อนข้างหายากจึงต้องขอความอนุเคราะห์ขอเชื้อจากเจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร

ในขณะทดลองช่วงขั้นตอนที่ต้องใส่สารดูดความชื้น (sodium sulfate) นั้นควรจะใส่จนกว่าสารนั้นได้ดูดความชื้นหรือน้ำจากอาหารเหลวหมดแล้วเพราะถ้ายังเหลือน้ำจากอาหารเหลวอยู่จะมีผลต่อการตรวจวิเคราะห์

จากการทดลองที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ในการย่อยสลายสารmethyl parathion ผลที่ได้นั้นพบว่าเชื้อสามารถย่อยสลายสารได้ดีแต่ประสิทธิภาพยังไม่ดีเท่าที่ควรอาจเป็นเพราะสายพันธุ์ของเชื้อแตกต่างกัน ส่วนการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* พบว่าเชื้อไม่สามารถย่อยสลายสาร methyl parathion ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับนำเชื้อนี้ไปใช้ย่อยสลายสาร chlorpyrifos พบว่าเชื้อ *Bacillus subtilis* สามารถย่อยสลายสารได้ 40.4% หลังจากใส่เชื้อแล้ว 8 วัน (ศศิพงศ์ , 2548) และการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* พบว่าได้ผลดีเพราะเชื้อนี้มีอยู่ในดินอยู่แล้วยิ่งถ้าใช้เวลานานในการย่อยสารน่าจะย่อยสลายสารได้มากกว่านี้

ในปัจจุบันมีรายงานว่าสามารถนำเอนไซม์ methyl parathion hydrolaseไปย่อยสลายสาร methyl parathion ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยมีผู้ศึกษาถึงระดับยีนและเอนไซม์ของเชื้อ methyl parathion-degrading *Pseudomonas* sp. ที่ isolate ได้ในประเทศไทย ซึ่งเป็นองค์ความรู้ใหม่เพิ่มเติมองค์ความรู้เดิมเกี่ยวกับ organophosphate-degrading gene นี้ จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อไปในอนาคต เพราะจะเป็นความรู้พื้นฐานที่จะสามารถนำไปศึกษาต่อเพื่อการนำมาใช้ในการกำจัดพิษ (detoxify) ของยาฆ่าแมลง methyl parathion และยาฆ่าแมลงที่มีความใกล้เคียงกัน (closely related insecticides) ในกลุ่ม organophosphate ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมต่อไปในอนาคตได้ ซึ่งจะเป็นผลดีในเชิงเศรษฐศาสตร์เพราะวิธีทางชีวภาพโดย microbial degradation นี้ เป็นวิธีกำจัดยาฆ่าแมลงที่มีราคาถูกที่สุด และในขณะเดียวกันมีประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากนี้ ยังเป็นวิธีที่ไม่สร้างมลภาวะให้แก่สิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้นโดยตัวของมันเองอีกด้วย (วันเพ็ญ , 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจวิเคราะห์สาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อพบว่า เชื้อ *Pseudomonas sp.* มีปริมาณสาร methyl parathion เหลืออยู่น้อยที่สุด คือ 2.404 , 2.308 และ 1.632 ppm เมื่อเวลาผ่านไป 1, 4 และ 8 วัน ซึ่งจะเหลือน้อยกว่าในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P.05) ส่วนเชื้อ *Bacillus thuringiensis* มีปริมาณสารเหลือน้อยรองลงมา คือ 4.008 , 3.688 และ 3.132 ppm ซึ่งจะเหลือน้อยกว่าในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P.05)ในวันที่ 4และ 8 แต่ในวันที่ 1 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเชื้อ *Bacillus subtilis* มีปริมาณสารเหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อมากที่สุดคือ 4.208 , 3.872 และ 3.612 ppm และเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P.05)ในวันที่ 4 และ 8 แต่ในวันที่ 1 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ดำริห์ รุ่งสุข . 2543.สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและสัตว์.ภาควิชาอารักขาพืช . คณะผลิตกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่

ดวงพร คันธโชติ . นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์. - - กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์ , / 2545 . 216 หน้า

ปรีชา พุทธิปรีชาพงษ์ . 2542 . สารกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย . ฝ่ายสารวัตรเกษตร กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร . หน้า 63

พนิดา คงสวัสดิ์วรกุล . 2538 . ชีววิทยาโมเลกุล . ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ.

พาลาภ สิงหเสนี . 2537 . พิษของยาฆ่าแมลงต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.117หน้า.

พิสิฐ วงศ์วัฒนะ. 2535 .สารพิษทางการเกษตรและในบ้านเรือน. เรือนแก้วการพิมพ์. หน้า28 – 51

มณจันทร์ เมฆธน และ ชัยวัฒน์ กระตุกฤกษ์ .2535. การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนโดยชีววิธีด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* AP01 (ลาร์มิน่า). หน้า 200 -208 . รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 32 สาขาพืช วันที่ 3 – 5 กุมภาพันธ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม . 2535 . หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย . กรุงเทพฯ . หน้า 811 – 860

ลักขณา อมรสิน. 2544. เคมีของสารกำจัดแมลง. ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.กรุงเทพฯ.

ลักขณา อมรสิน. 2545. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช.ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.105หน้า

วันเพ็ญ แย้มขุนทอง. 2547.การศึกษาการแยกบริสุทธิ์ของเอนไซม์เมธิลพาราไธออนไฮโดรเลสจากแบคทีเรียที่ย่อยสลายเมธิลพาราไธออน *Pseudomonas* sp. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ.

วิฑูรย์ เลี่ยนจำรูญ. 2542. การส่งเสริมการเกษตรกับการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช. หน้า 91 – 114. รายงานสรุปการสัมมนาแนวทางการสร้างมติในการปฏิรูปนโยบายสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อการดำเนินการในอนาคต 2542. กรุงเทพฯ. ฝ่ายเศรษฐกิจรายสาขาสถาบันวิจัยเพื่อพัฒนาประเทศไทย.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศศิพงศ์ มณีมงคล.2548. ประสิทธิภาพของไตรโครเดอร์มา ฮาร์เซียนัม คีโตเมี่ยม และบาซิลลัส ซับทิลิสในการย่อยสลายสารกำจัดแมลงคลอร์ไพริฟอส. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

สนชัย เพ็ชรพรหม .2539 .การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา . วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะบัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

สุกัญญา มหาธีรานนท์. 2534. แนะนำเครื่องมือวิทยาศาสตร์ Gas Liquid Chromatograph.ข่าวศูนย์. (3)4. 119 – 123.

สุภาณี พิมพ์สมาน . 2537 . สารฆ่าแมลง . โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา . ขอนแก่น . หน้า 1 – 4

เสาวนีย์ ธรรมสถิต . 2548 . แบคทีเรียทางเทคโนโลยีชีวภาพ เซลล์และผลิตภัณฑ์ของเซลล์.โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาสาธารณสุขอาเซียน มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนพุทธมณฑลสาย 4 ศาลายา นครปฐม. หน้า149 – 157

องอาจ เติมเกียรติไพศาล , จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพพรรณ ภราดร์นุวัฒน์ และ รวี เสรฐภักดี. 2535. การคัดเลือกจุลินทรีย์จากดินเพื่อควบคุมโรครากเน่า *Phytophthora* ของกิ่งตอนส้มเขียวหวานโดยชีววิธี. หน้า 685 – 694 . รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อุรัจฉทา กสิกรรมไพบูลย์ , วิชัย โฆสิตรัตน์ , นิพนธ์ ทวีชัย และ อลิต้า เมฆสองสี.2535. ผลของเชื้อแบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ. หน้า 321 – 328 . การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .ครั้งที่ 30 สาขาพืช วันที่ 29 มกราคม – 1 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Alippi,A.M. and C.I.Monaco.1994. In vitro antagonism of *Bacillus* spp. Against *Sclerotium rolfsii* and *Fusarium salani*. Revista de la Facultad de Agronomia La Plata.70 : 91- 95

Arthur , H. B.,Charles A.B. and Chatles G.B.1962. bacteriology : Principles and Practice. Sixth Edition. New York. Evanston, San Francisco, London.422pp.

Digrak, M. and kazanici, F. 2001. Effect of some Organophosphorus Insecticides on Soil Microorganisms. Department of Microbiology Kahramanmaras Sutcu Imam University. Turkey Journal Biology.25: 51-58.

Domsh, K.H.,Gams,W.and Anderson, T.H.1980. Compendium of Soil Fungi Vol.1 Academic Press. London.859 pp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fest, C.and K.J. Schmidt. 1983. Organophosphorus Insecticides. *In* Buchel , K.H.(Editor). Chemistry of Pesticide . Translated by Holmwood , G.m.John Wiley& Sons. New York. Pp. 48 – 125

Hamed, H.A. 1999. Biological control of basal stem rot and wilt of Cucumber caused by *Pythium ultimum* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*. African Journal of Mycology and Biotechnology . 7(1) : 81 – 91.

Imran, H., Altaf, K.M. and Guk Kim J. 2004. Malathion degradation by *Pseudomonas* using activated sludge treatment system (Biosimulator) . Department of Environmental Engineering Chonbuk National University. Biotechnology.3(1) :82 – 89

Keprasertsup, C., Upatham, S., Sukhapanth, N.and Prempree, P. 2001. Degradation of methyl parathion in an aqueous medium by soil bacteria. Department of Environmental Engineering Rungsit University. Bangkok Science Asia. 27:261-270.

Sarhan, M.M., Tohamy, M.R.A., Ezzat, S.M., Ei – Essawy, A.A. and Mohamed, F.A. 2001. Biocontrol of Fusarium tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* . Egyptian journal of Microbiology.36(1):103-118.

Singh, K.B., walker, A ., Morgan, W.A.J. and Wright, J.D. 2003. Effects of soil pH on the biodegradation of chlorpyrifos and isolation of a chlorpyrifos- degrading bacterium. Applied and Environmental Microbiology.69 (9):5198-5206.

Stienwandter H. 1985. Universal 5 min on – time method for extracting and isolating pesticide residues and industrial chemicals. Fresenins Z Anl. Clumie.Pp. 724-752.

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ที่ 1 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas sp.* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas sp.* ในวันที่ 0 , 1 , 4 และ 8 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ (ppm)																								
	ก่อนการทดลอง					หลังการทดลอง 2 ชั่วโมง					หลังการทดลอง 1 วัน					หลังการทดลอง 4 วัน					หลังการทดลอง 8 วัน				
	ซ้ำที่					ซ้ำที่					ซ้ำที่					ซ้ำที่					ซ้ำที่				
	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.
Control	5	5	5	5	0	5	5	5	5	0	4.342	4.489	4.353	4.394	0.081	4.38	4.359	4.361	4.366	0.011	4.39	4.317	4.249	4.318	0.07
Tret	5	5	5	5	0	2.493	2.526	2.465	2.494	0.068	2.483	2.355	2.377	2.404	0.068	2.412	2.197	2.315	2.308	0.107	1.578	1.783	1.534	1.632	0.133

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ที่ 2 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thiringiensis* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ในวันที่ 0 , 1 , 4 และ 8 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ (ppm)																								
	ก่อนการทดลอง					หลังการทดลอง2 ชั่วโมง					หลังการทดลอง 1 วัน					หลังการทดลอง 4 วัน					หลังการทดลอง 8 วัน				
	ซ้ำที่					ซ้ำที่					ซ้ำที่					ซ้ำที่					ซ้ำที่				
	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.
Control	5	5	5	5	0	5	5	5	5	0	4.342	4.489	4.353	4.394	0.081	4.38	4.359	4.361	4.366	0.011	4.39	4.317	4.249	4.318	0.07
Tret	5	5	5	5	0	4.131	4.089	4.185	4.12	0.047	3.984	3.929	4.113	4.008	0.094	3.686	3.694	3.686	3.688	0.004	3.381	2.931	3.088	3.132	0.228

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ที่ 3 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ ที่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และไม่มีการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในวันที่ 0 , 1 , 4 และ 8 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณความเข้มข้นของสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ (ppm)																								
	ก่อนการทดลอง					หลังการทดลอง 2 ชั่วโมง					หลังการทดลอง 1 วัน					หลังการทดลอง 4 วัน					หลังการทดลอง 8 วัน				
	ซ้ำที่					ซ้ำที่					ซ้ำที่					ซ้ำที่					ซ้ำที่				
	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.	1	2	3	เฉลี่ย	sd.
Control	5	5	5	5	0	5	5	5	5	0	4.342	4.489	4.353	4.394	0.081	4.38	4.359	4.361	4.366	0.011	4.39	4.317	4.249	4.318	0.07
Tret	5	5	5	5	0	4.427	4.4	4.423	4.416	0.014	4.23	4.143	4.25	4.208	0.056	3.943	3.741	3.934	3.872	0.113	3.485	3.779	3.575	3.612	0.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.* ก่อนการทดลอง

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	0.3670	0.3670	0.73	7.71	21.20	0.5566
Ex.Error	4	2.0019	0.5005				
Total	5	2.3689	0.4738				

GRAND MEAN = 2.24733332792918

CV = 31.4789 %

LSD .05 = 1.60347131244625

LSD .01 = 2.6593594821695

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .500466168272975

STANDARD ERROR OF MEAN = .408438558526238

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		2.4947	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		2.4947	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่5 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.* หลังการทดลอง 1 วัน

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	0.2460	0.2460	0.49	7.71	21.20	0.5260
Ex.Error	4	2.0094	0.5023				
Total	5	2.2554	0.4511				

GRAND MEAN = 2.20250002543132

CV = 32.1798 %

LSD .05 = 1.6064735421563

LSD .01 = 2.66433868446959

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .502341999776841

STANDARD ERROR OF MEAN = .409203290870134

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		2.4050	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		2.4050	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่6 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.* หลังการทดลอง 4 วัน

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	0.1423	0.1423	0.28	7.71	21.20	0.6259
Ex.Error	4	2.0232	0.5058				
Total	5	2.1655	0.4331				

GRAND MEAN = 2.15400000413259

CV = 33.0173 %

LSD .05 = 1.61198776166011

LSD .01 = 2.67348402546223

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .505796495643618

STANDARD ERROR OF MEAN = .410607880929246

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		2.3080	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		2.3080	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Pseudomonas sp.* หลังการทดลอง 8 วัน

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	0.2035	0.2035	0.40	7.71	21.20	0.5646
Ex.Error	4	2.0353	0.5088				
Total	5	2.2388	0.4478				

GRAND MEAN = 1.81583333015442

CV = 39.2835 %

LSD .05 = 1.61681473062138

LSD .01 = 2.68148956043979

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .508830165536246

STANDARD ERROR OF MEAN = .411837413524741

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		2.0000	A
trt		1.6317	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		2.0000	A
trt		1.6317	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 8 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* ก่อนการทดลอง

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	6.8373	6.8373	13.64	7.71	21.20	0.0218
Ex.Error	4	2.0046	0.5012				
Total	5	8.8420	1.7684				

GRAND MEAN = 3.06750003496806

CV = 23.0782 %

LSD .05 = 1.60457921799792

LSD .01 = 2.66119694512335

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .501157993309031

STANDARD ERROR OF MEAN = .408720765849184

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		4.1350	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		4.1350	A
trt		2.0000	B

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่9 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* หลังการทดลอง 1 วัน

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	6.0521	6.0521	12.00	7.71	21.20	0.0265
Ex.Error	4	2.0178	0.5045				
Total	5	8.0700	1.6140				

GRAND MEAN = 3.0043332974116

CV = 23.6410 %

LSD .05 = 1.60985689407723

LSD .01 = 2.66994997850561

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .504460166639328

STANDARD ERROR OF MEAN = .410065103221154

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		4.0087	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		4.0087	A
trt		2.0000	B

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 10 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* หลังการทดลอง 4 วัน

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	4.2774	4.2774	8.55	7.71	21.20	0.0433
Ex.Error	4	2.0000	0.5000				
Total	5	6.2774	1.2555				

GRAND MEAN = 2.84433337052663

CV = 24.8605 %

LSD .05 = 1.6027414424654

LSD .01 = 2.65814899175458

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .50001066639201

STANDARD ERROR OF MEAN = .408252644976943

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		3.6887	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		3.6887	A
trt		2.0000	B

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 11 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* และไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* หลังการทดลอง 8 วัน

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	1.9267	1.9267	3.66	7.71	21.20	0.1275
Ex.Error	4	2.1043	0.5261				
Total	5	4.0310	0.8062				

GRAND MEAN = 2.56666668256124

CV = 28.2591 %

LSD .05 = 1.64399706146266

LSD .01 = 2.72657149530768

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .52608317110157

STANDARD ERROR OF MEAN = .418761336603389

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		3.1333	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		3.1333	A
trt		2.0000	B

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 12แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis*และไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis* ก่อนการทดลอง

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	8.7604	8.7604	17.52	7.71	21.20	0.0150
Ex.Error	4	2.0004	0.5001				
Total	5	10.7608	2.1522				

GRAND MEAN = 3.20833333333333

CV = 22.0420 %

LSD .05 = 1.60289449252962

LSD .01 = 2.65840282550662

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .500106165661503

STANDARD ERROR OF MEAN = .408291630113208

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		4.4167	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY

BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		4.4167	A
trt		2.0000	B

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY

BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 13 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis*และไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis* หลังการทดลอง 1 วัน

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	7.3107	7.3107	14.57	7.71	21.20	0.0198
Ex.Error	4	2.0065	0.5016				
Total	5	9.3172	1.8634				

GRAND MEAN = 3.10383335749308

CV = 22.8186 %

LSD .05 = 1.60531572126393

LSD .01 = 2.66241843685127

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .501618162809375

STANDARD ERROR OF MEAN = .40890836903858

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		4.2077	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY

BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		4.2077	A
trt		2.0000	B

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY

BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 14 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร methyl parathion ที่เหลืออยู่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อที่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis*และไม่มีการปลูกเชื้อ *Bacillus subtilis* หลังการทดลอง 4 วัน

Analysis of Variance

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	1	5.2603	5.2603	10.39	7.71	21.20	0.0327
Ex.Error	4	2.0260	0.5065				
Total	5	7.2864	1.4573				

GRAND MEAN = 2.9363333384196

CV = 24.2376 %

LSD .05 = 1.61312620978221

LSD .01 = 2.67537214331314

DUNCAN'S MULTIPLE-RANGE TEST

NUMBER OF MEANS = 2

ERROR DEGREE OF FREEDOM = 4

ERROR MEAN SQUARE = .506511174028399

STANDARD ERROR OF MEAN = .410897868100415

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .01
con		3.8727	A
trt		2.0000	A

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY

BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
con		3.8727	A
trt		2.0000	B

MEANS NOT SHARING LETTER IN COMMON DIFFER SIGNIFICANTLY

BY DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้